

TESIS DE DOCTORADO

**VARIABILIDAD MOLECULAR DE MARCADORES
GENÉTICOS DE INFLAMACIÓN EN EL RIESGO A
DESARROLLAR CÁNCER DE PRÓSTATA (PCa).
ESTUDIO GENÉTICO-EPIDEMIOLÓGICO.**

Nerea Aguíñ Losada

**ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL
PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN
DEL MEDIO NATURAL**

**SANTIAGO DE COMPOSTELA
2019**





DECLARACIÓN DE LA AUTORA DE LA TESIS

Variabilidad molecular de marcadores genéticos de inflamación en el riesgo a desarrollar cáncer de próstata (PCa). Estudio genético-epidemiológico.

Dña. Nerea Aguín Losada

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) Confirmo que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

En Santiago de Compostela, a 9 de octubre de 2019

Fdo. Nerea Aguín Losada





AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR Y TUTOR DE LA TESIS

**Variabilidad molecular de marcadores genéticos de
inflamación en el riesgo a desarrollar cáncer de próstata
(PCa). Estudio genético-epidemiológico.**

D. Javier Rodríguez Luis
D. José Luis Blázquez Caeiro

INFORMAN:

Que la presente tesis, corresponde con el trabajo realizado por D/Dña. Nerea Aguíñ Losada, bajo nuestra supervisión, y autorizamos su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que no incurre en las causas de abstención establecidas en Ley 40/2015.

En Santiago de Compostela, a 9 de octubre de 2019

Director: Javier Rodríguez Luis

Tutor: José Luis Blázquez Caeiro





CONFLICTO DE INTERÉS

Variabilidad molecular de marcadores genéticos de inflamación en el riesgo a desarrollar cáncer de próstata (PCa). Estudio genético-epidemiológico.

Dña. Nerea Aguín Losada

Declara que no existe ningún conflicto de interés en relación a esta Tesis Doctoral.

En Santiago de Compostela, a 9 de octubre de 2019.

Fdo. Nerea Aguín Losada





Las muestras biológicas de origen humano utilizadas en esta tesis doctoral, así como los datos que componen la base de datos analizada, son anónimas, sin datos de carácter personal, por lo que no es necesaria la evaluación del comité ético.





Yo soy yo y mis circunstancias.

Es decir, soy mis genes y mi ambiente.

Tito A. Varela.

¿Por qué? Porque puedo.

Y lo más importante: porque quiero.

Abel.



AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, a mi director, Javier, por llegar hasta aquí conmigo. Por apoyarme en todo momento e invertir un montón de tiempo y esfuerzo con esta tesis, por tener siempre un momento para contestar mis infinitas dudas y tener una paciencia incommensurable. Pero, sobre todo, gracias por implicarte hasta el punto de cambiar tu código de colores.

A José Luis Blázquez por empezar este camino conmigo y enseñarme la importancia de ser autosuficiente. Por recordarme que para conseguir que las cosas sucedan no solo debes esforzarte sino también estar segura de que eso es lo que quieres.

Por supuesto, a todos los voluntarios que, de forma desinteresada, han invertido tiempo y sangre para que realizar este proyecto haya sido posible. Sin ellos ningún estudio clínico sería posible.

Personalmente tengo que agradecerle al servicio de enfermería del Centro de Salud de Baltar. Muchísimas gracias por acogerme todas aquellas mañanas. Me sentí una más y aprendí muchísimo de todas ellas.

A Óscar, sin el que no habría sabido soslayar todos los baches burocráticos y probablemente no habría llegado a tiempo al día de hoy. Saber que está ahí ha hecho mucho más sencilla la recta final. Gracias por todos los consejos y llamadas.

A Nuria, por ser una inconsciente y decir que sí. Y desde entonces solamente puedo dar las gracias, porque no estoy sola. Por cada café, cada charla y cada hora de trabajo compartido.

A Chus, Itzy, Marta, Fi, Dani, David, Álex, Chihi y Juan, por seguir ahí, paso a paso. Saber que están cerca, de una forma u otra, para escucharme y aconsejarme ha marcado la diferencia. Especialmente a las “tres fantásticas”, sois maravillosas, brillantes y únicas. No suelo deciros lo importantes que sois, así que aquí quedará constancia: 3000.

A Gali, por los mejores oídos del mundo. Sin permitirme rendirme y siempre dispuesto a calmarme. Encontrarte al llegar a casa hace que el día mejore, por muy malo que haya sido. Gracias amore.

No puedo olvidarme de mi familia, que llevan años soportando los horarios y biorritmos que marca la realización de una tesis. En especial a Damián y Sara, gracias por soportar mis cambios de humor y mi falta de tiempo. A Iago y Abel, por ser mis hermanos, pero también amigos. Bloodbrother, gracias por abrir las puertas de tu casa, dedicarme tanto tiempo y ayudarme con cada duda. Abel, gracias por preguntar cada día “¿qué tal te ha ido hoy?” y escuchar las eternas e incomprensibles respuestas.

Y, por último, y más importante, gracias infinitas a mis padres. Mamá, sin tu exigencia ni tu apoyo incondicional no sería quien soy y mi tozudez no me habría hecho llegar al día de hoy. Papá, gracias por los km recorridos conmigo y las horas escuchando monólogos interminables. Siempre me habéis enseñado a buscar en los libros todo aquello que quería saber y a no tener miedo a preguntar. Sin vuestros cimientos nunca habría construido esta tesis. Por todo ello, gracias.





A raíz de resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral se ha publicado el siguiente artículo:

Aguín, N., Rodríguez-Alonso, A., López-Trigo, N., Castuera, I. P., Luis, J. R., & Caeiro, B. (2018). Association Between the Interleukin-17 Gene Polymorphism-197G> A and the Risk of Prostate Cancer in a Galician Population. *Pathology & Oncology Research*, 1-7.



ÍNDICE.

RESUMEN	v
RESUMO	v
ABSTRACT	vi

ABREVIATURAS Y SIGLAS	vii
------------------------------------	-----

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La próstata: consideraciones generales.....	1
1.1.1. ESTRUCTURA ANATÓMICA Y DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA.....	1
1.1.2. SIGNIFICADO FUNCIONAL DE LA PRÓSTATA.....	4
1.1.3. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DE LA PRÓSTATA.....	5
1.2. El proceso inflamatorio.....	8
1.2.1. INFLAMACIÓN Y CÁNCER.....	10
1.2.2. INFLAMACIÓN Y CÁNCER DE PRÓSTATA.....	11
1.2.3. INFLAMACIÓN, DAÑO CELULAR Y REPARACIÓN.....	12
1.3. El cáncer de próstata (PCa).....	14
1.3.1. CARCINOGENESIS.....	14
1.3.2. CARCINOGENESIS PROSTÁTICA.....	16
1.3.3. ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO DE PCA.....	17
1.3.4. CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	19
1.3.5. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	21
1.3.6. FACTORES DE RIESGO.....	25
1.3.6.1. Edad.....	25
1.3.6.2. Origen geográfico y grupos poblacionales.....	25
1.3.6.3. Dieta.....	26
1.3.6.4. Índice de masa corporal (IMC).....	27
1.3.6.5. Tabaquismo.....	27
1.3.6.6. Estrés oxidativo.....	28
1.3.6.7. Vasectomía.....	28
1.3.6.8. Exposiciones ambientales.....	28
1.3.6.9. Historia familiar.....	28
1.3.6.10. Hormonas y quimioprevención.....	29
1.3.6.11. Infección e inflamación de la próstata.....	29
1.3.6.12. Variación genética.....	30
1.4. Marcadores genético moleculares.....	30
1.4.1. CITOQUINAS.....	31
1.4.1.1. Familia Interleuquina 1.....	33
1.4.1.1.1. Interleuquina 1.....	35
A. Interleuquina 1 alfa (IL-1 α).....	38
B. Interleuquina 1 beta (IL-1 β).....	42
1.4.1.1.2. Interleuquina 18 (IL-18).....	47
1.4.1.2. Interleuquina 6 (IL-6).....	51
1.4.1.3. Interleuquina 10 (IL-10).....	58

1.4.1.4. Interleuquina 17A (IL-17A).....	63
1.4.1.5. MIF.....	70
1.4.1.6. TNF alfa (TNF- α).....	76
1.4.2. PROTEÍNAS DE REPARACIÓN DE ADN.....	82
1.4.2.1. XRCC1.....	82
1.4.2.2. ERCC4.....	86
1.5. Objetivos.....	90

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Muestra de estudio.....	93
2.1.1. PERIODO Y ÁREA DE ESTUDIO.....	94
2.1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	94
2.1.3. CRITERIOS BIOÉTICOS.....	95
2.2. Recogida de las muestras.....	95
2.2.1. MUESTRA BIOLÓGICA.....	95
2.2.2. CUESTIONARIOS.....	95
2.3. Selección de marcadores genético moleculares.....	96
2.4. Extracción de ADN y genotipado.....	97
2.4.1. EXTRACCIÓN DE ADN.....	97
2.4.1.1. Protocolo para extracción de ADN a partir de sangre total mediante Fenol-Cloroformo-Isoamílico.....	98
2.4.1.2. Protocolo kit <i>JetQuick</i> para la purificación de ADN a partir de sangre venosa total.....	99
2.4.1.3. Protocolo kit <i>MasterPure</i> para la purificación de ADN a partir de sangre venosa total.....	100
2.4.2. AMPLIFICACIÓN Y GENOTIPADO.....	101
2.5. Análisis estadístico.....	108
2.5.1. ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO EN LAS MUESTRAS DE CASOS Y CONTROLES.....	108
2.5.1.1. Cálculo de frecuencias.....	108
2.5.1.2. Análisis del equilibrio Hardy-Weinberg.....	109
2.5.1.3. Índice de heterocigosidad esperado.....	110
2.5.1.4. Estadístico t_s	111
2.5.2. ANÁLISIS DE PSA.....	111
2.5.3. CÁLCULO DE RIESGO.....	112
2.5.3.1. <i>Odds Ratio</i>	113
2.5.3.2. Cálculo de la significación estadística.....	113
2.5.3.2.1. <i>Intervalos de Confianza (95%)</i>	114
2.5.3.2.2. <i>Test χ^2</i>	114
2.5.3.3. Ajuste de los <i>Odds Ratio</i>	115
2.5.4. MODELOS GENÉTICOS.....	115
2.5.4.1. <i>Modelo dominante-recesivo</i>	115
2.5.4.2. <i>Modelo sobredominante</i>	116
2.5.4.3. <i>Modelo codominante</i>	116
2.5.4.4. <i>Modelo alélico</i>	116
2.5.5. ESTRATIFICACIÓN POR VARIABLES.....	117
2.5.5.1. Variables analizadas.....	117

2.5.5.1.1. <i>Edad</i>	117
2.5.5.1.2. <i>Índice de Masa Corporal (IMC)</i>	117
2.5.5.1.3. <i>Tabaquismo</i>	118
2.5.5.2. Análisis de estratificación.....	119
2.5.6. ANÁLISIS DE MARCADORES COMBINADOS.....	120

3. RESULTADOS

3.1. Análisis de PSA.....	123
3.1.1. ANÁLISIS PSA/IL-1 α	124
3.1.2. ANÁLISIS PSA/IL-1 β	126
3.1.3. ANÁLISIS PSA/IL-18.....	127
3.1.4. ANÁLISIS PSA/IL-6.....	128
3.1.5. ANÁLISIS PSA/IL-10.....	129
3.1.6. ANÁLISIS PSA/IL-17A.....	131
3.1.7. ANÁLISIS PSA/MIF.....	132
3.1.8. ANÁLISIS PSA/TNF- α	134
3.2. Análisis de asociación marcadores/PCa.....	135
3.2.1. INTERLEUQUINA 1 α – rs3783553.....	135
3.2.2. INTERLEUQUINA 1 β – rs16944.....	138
3.2.3. INTERLEUQUINA 18 – rs187238.....	141
3.2.4. INTERLEUQUINA 6 – rs1800795.....	144
3.2.5. INTERLEUQUINA 10 – rs1800896.....	148
3.2.6. INTERLEUQUINA 17A – rs2275913.....	152
3.2.7. MIF - rs2070767.....	155
3.2.8. TNF- α – rs1799964.....	159
3.2.9. XRCC1 – rs25487.....	163
3.2.10. ERCC4 – rs744154.....	166
3.2.11. ANÁLISIS DE RIESGO DE COMBINACIONES GENOTÍPICAS DE MARCADORES INFLAMATORIOS.....	171

4. DISCUSIÓN

4.1. Análisis de PSA.....	175
4.2. Análisis de asociación marcadores/PCa.....	177
4.2.1. INTERLEUQUINA 1 α – rs3783553.....	177
4.2.2. INTERLEUQUINA 1 β – rs16944.....	180
4.2.3. INTERLEUQUINA 18 – rs187238.....	182
4.2.4. INTERLEUQUINA 6 – rs1800795.....	185
4.2.5. INTERLEUQUINA 10 – rs1800896.....	188
4.2.6. INTERLEUQUINA 17A – rs2275913.....	191
4.2.7. MIF - rs2070767.....	194
4.2.8. TNF- α – rs1799964.....	196
4.2.9. XRCC1 – rs25487.....	198
4.2.10. ERCC4 – rs744154.....	201
4.2.11. COMBINACIONES GENOTÍPICAS DE LOS MARCADORES INFLAMATORIOS.....	202
4.3. Discusión general.....	204

5. CONCLUSIONES.....	211
6. REFERENCIAS.....	217
7. ANEXOS	
7.1. Anexo 1.....	xvii
7.2. Anexo 2.....	xxxix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xliii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xlvi



RESUMEN.

El cáncer de próstata (PCa) es el más diagnosticado en España y, al igual que otros tipos de cáncer, su aparición está asociada a múltiples factores, entre los que destaca la inflamación y sus efectos sobre la integridad del ADN. Los procesos inflamatorios son muy complejos y su desarrollo depende de la actividad de una gran cantidad de genes. Por lo tanto, el riesgo de sufrir PCa se va a ver afectado por factores genéticos. Además, existen otro tipo de factores no genéticos entre los que se incluyen edad, tabaquismo e índice de masa corporal (IMC).

En este trabajo se ha analizado, en una muestra de casos y controles de la población gallega, la posible asociación entre 10 marcadores genético moleculares localizados en genes implicados en rutas inflamatorias y también en mecanismos de reparación de ADN con el desarrollo de PCa. Además, se llevó a cabo un análisis estratificado en función de la edad, el IMC y el consumo tabáquico, con el que se buscaba poner de manifiesto la existencia de un efecto diferencial del genotipo sobre el desarrollo del PCa en grupos concretos de la población.

Los resultados del análisis de la muestra a nivel global no permiten detectar, excepto en un caso, una asociación significativa entre el riesgo de desarrollar PCa y los polimorfismos genéticos individuales. Sin embargo, el estudio desvela que, en ciertos grupos de la muestra determinados por las variables de edad, tabaquismo e IMC, los genotipos de muchos de los marcadores genético moleculares analizados tienen un efecto significativo sobre la aparición de la enfermedad, aumentando o reduciendo el riesgo a desarrollarla. Asimismo, se realizó un análisis de marcadores genéticos pareados que permitió desvelar efectos de riesgo y protección, para ciertos polimorfismos genéticos, que no fueron detectados en el análisis general ni, incluso, en el estratificado.

Palabras clave: cáncer de próstata, marcador genético molecular, polimorfismo, inflamación, estudio caso-control, Galicia.

RESUMO.

O cancro de próstata (PCa) é o máis diagnosticado en España e, do mesmo xeito que outros tipos de tumores, a súa aparición está asociada a múltiples factores, entre os que destaca a inflamación e os seus efectos sobre a integridade do ADN. Os procesos inflamatorios son moi complexos e o seu desenvolvemento depende da actividade dunha gran cantidade de xenes. Polo tanto, o risco de sufrir cancro de próstata vaíse a ver afectado por factores xenéticos. Ademais, existen outro tipo de factores non xenéticos entre os que se inclúen idade, tabaquismo e índice de masa corporal (IMC).

Neste traballo analizouse, nunha mostra de casos e controis da poboación galega, a posible asociación entre 10 marcadores xenético moleculares, localizados en xenes implicados en rutas inflamatorias e tamén en mecanismos de reparación de ADN, co desenvolvemento de cancro de próstata. Ademais, levouse a cabo unha análise estratificada en función da idade, o índice de masa corporal e o tabaquismo, co que se buscaba pór de manifesto a existencia dun efecto diferencial do xenotipo sobre o desenvolvemento do PCa en grupos concretos da poboación.

Os resultados da análise da mostra a nivel global non permiten detectar, agás nun caso, unha asociación significativa entre o risco de desenvolver cancro de próstata e os polimorfismos xenéticos

individuais. Con todo, o estudo desvela que, en certos grupos da mostra determinados polas variables de idade, tabaquismo e IMC, os xenotipos de moitos dos marcadores xenéticos moleculares analizados teñen un efecto significativo sobre a aparición da enfermidade, aumentando ou reducindo o risco a desenvólvela. Así mesmo, realizouse unha análise de marcadores xenéticos pareados que permitiu desvelar efectos de risco e protección, para certos polimorfismos xenéticos, que non foron detectados na análise xeral nin, incluso, na estratificada.

Palabras chave: cancro de próstata, marcador xenético molecular, polimorfismo, inflamación, estudo caso-control, Galicia.

ABSTRACT.

Prostate cancer (PCa) is the most diagnosed malignant tumour in Spain and, like others types of cancer, its development is associated with multiple factors, among which stands out the inflammation and its effects on the integrity of DNA. Inflammatory pathways are very complex and its development depends on the activity of a large number of genes. Therefore, the risk of developing PCa it is affected for genetic factors. Furthermore, there are other kind of non-genetic factors including age, smoking and body mass index (BMI).

In this thesis work the possible association between 10 molecular genetic markers and the risk of developing PCa has been analysed, in a case-control study of a sample of Galician population. These polymorphisms are located in genes which are related with inflammatory pathways and DNA reparation mechanisms. Additionally, a stratified analysis based on age, smoking and BMI was carried out. The aim of that analysis was to reveal the existence of a differential effect of the genotype on the development of PCa in specific groups of the population.

The results of the global analysis of the sample do not allow us to detect, except in one case, a significant association between the risk of developing PCa and individual genetic polymorphisms. However, this study unveils that, in some groups of the sample determined by age, smoking and BMI, the genotypes of many of the molecular genetic markers analysed have a significant effect on the occurrence of the pathology, increasing or reducing the risk to develop it. Likewise, an analysis of paired genetic markers was carried out, which revealed risk and protection effects for certain genetic polymorphisms. These significant association had not been previously detected in the general or in the stratified analysis.

Key words: prostate cancer, molecular genetic marker, polymorphism, inflammation, case-control study, Galicia.

ABREVIATURAS Y SIGLAS.

°C: Grados centígrados.

3'UTR: *3' untranslated region*; Región 3' no traducida.

5'UTR: *5' untranslated region*; Región 5' no traducida.

α (en análisis estadístico): Nivel de significación estadística.

μ l: Microlitro.

Ac: Anticuerpo.

Act1: *An NF- κ B-activating protein.*

ADNc (cDNA): ADN complementario.

ADT: Terapia de deprivación androgénica.

AFS: Estroma fibromuscular anterior de la próstata.

Ag: Antígeno.

AGF: Atipia glandular focal.

AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos.

AJCC: *American Joint Committee on Cancer.*

AK: *Actinic Keratosis.*

AKT (PKB): *Protein Kinase B.*

ANG: Angiogenina.

AP-1: *Activator protein 1.*

APRIL: *A proliferation-inducing ligand.*

APUD: *Amine precursor uptake and decarboxylation.*

ARNm: ARN mensajero.

ASF: *Alternative splicing factor 1.*

ASK 1: *Signal regulating kinase.*

ATF: *Activating Transcription Factor.*

BAD: *Bcl-2 antagonist of cell death.*

BATF: *Basic Leucine zipper Transcription Factor, ATF-like.*

BAX: *Bcl-2-like protein 4.*

BCC: *Basal cell carcinoma.*

BCL: *B-cell lymphoma.*

BER: *Base scission repair.*

bFGF: *Basic Fibroblast Growth Factor.*

BP: *Binding protein.*

BRCA1, 2: *Breast cancer 1, 2.*

C/EBP: *CCAAT-enhancer-binding protein.*

C-BAD: *Dominio de Activación C/EBP- β .*

C-FLIP: *Celullar FLICE Inhibitory Protein.*

cAMP: *Cyclic adenosine monophosphate.*

CARD: *N-terminal caspase recruitment domain.*

Casp-1: *Caspasa 1.*

CCL: *CC Chemokine Ligand.*

CCR7: *CC Chemokine Receptor type 7.*

CD4⁺: *Cluster of cuadruple differentiation.*

CD40L: *CD40 ligand.*

CeGen: *Centro Nacional de Genotipado.*

Células Th1: *Células o linfocitos T colaboradores tipo 1.*

cIAP-1: *Cellular inhibitor of apoptosis protein-1.*

CLC: *Cardiotrophin Like Cytokine.*

CNTF: *Ciliary Neurotrophic Factor.*

CNV: *Copy Number Variation.*

COX-2: *Ciclooxigenasa tipo 2.*

CRPB: *Cellular Retinol Binding Protein.*

CSF2: *Colony Stimulating Factor 2.*

CT-1: *Cardiotrophin-1.*

CTC: *Células tumorales circulantes.*

CTL: *Cytotoxic T Lymphocyte = cytotoxic T cell = CD8⁺ T-cell*

CXCL1, 2, 6... : *chemokine (C-X-C motif) ligand 1, 2, 6...*

CXCR3, 4... : *CXC chemokine receptor 3, 4, etc.*

CZ: *Zona central de la próstata.*

DAMP: *Danger Associated Molecular Patterns.*

DC: Células dendríticas.

DDT: D-dopacromo-tautomerasa.

Del: Deleción.

DHT: Dihidrotestosterona.

dNMP: Desoxinucleótido monofosfato.

dNTP: Desoxirribonucleótido trifosfato.

DSB: *Double Strand Break.*

EGF: *Epidermal Growth Factor.*

Epo: *Erithropoietin.*

ERK: *Extracellular signal-regulated kinases.*

f: Frecuencia absoluta.

f_r: Frecuencia relativa.

FADD: *Fas-associated death domain.*

FasL: *Fas ligand.*

FcγR: *Fc gamma Receptor.*

FNIII: *Fibronectin type III.*

FOXP3: *Forkhead box P3.*

g: Fuerza g (9,81 m/s²)

G-CSF: *Granulocyte colony-stimulating factor.*

g.l.: Grados de libertad.

GM-CSF: *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.*

GP: *Glucoprotein.*

GSTP1: *Glutathione S-transferase P.*

h: Índice de heterocigosidad esperada.

\hat{h} : Índice de heterocigosidad esperada insesgada.

H4TF-1: *Histone 4 Transcription Factor 1.*

HBOC: Síndrome de cáncer hereditario de mama y ovario.

HBP: Hiperplasia Benigna de Próstata.

HIF-1: *Hipoxia inducible factor 1.*

HLA: *Human Leukocyte Antigen.*

HPC1, X: *Hereditary prostate cancer gene 1, X.*

HR: *Hazard ratio.*

HSP: *Heat Shock Proteins.*

IARC: *International Agency for Research on Cancer.*

IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

ICAM-I: *Intercellular Adhesion Molecule 1.*

ICE (caspasa 1): Enzima convertora de IL-1 β .

IFN- γ : *Interferon gamma.*

Ig: Inmunoglobulina.

IGF: *Insulin-like growth factors.*

IGFB3: *Insulin-like growth factor-binding protein 3.*

IKK: *I κ B kinase.*

IKK α : *I κ B kinase alpha.*

I κ B ζ : *Atypical nuclear I κ B protein.*

I κ B α : *Inhibitor of kappa B.*

IL: Interleuquina.

IL-1RAcP: Proteína accesoria de IL-1R.

IL-1R: Receptor de IL-1.

IL-1RI: Subunidad I del receptor de IL-1.

IL-1RL1 (receptor específico ST2): *Interleukin 1 receptor-like 1.*

IL-1RN: *IL-1 receptor antagonist.*

Ile: isoleucina.

IMC: Índice de Masa Corporal.

iNOS: *Inducible nitric oxide synthases.*

Indel: Inserción o delección.

Ins: Inserción.

iPLEX: *Increased Plexing Efficiency and Flexibility.*

IRAK-1: *Interleukine-1 Receptor-associated kinase 1.*

IRAK-4: *Interleukine-1 Receptor-associated kinase 4.*

IRF3: *Interferon Regulatory Factor 3.*

ISCH: Instituto de Salud Carlos III.

JAB/CSN5: *JUN-activation domain-binding protein 1/COP9 signalosome subunit 5.*

JAK: *Janus Kinase.*

JNKs: *c-Jun N-Terminal Kinases.*

kDa: KiloDalton.

Kg: Kilogramo.

LAP: *Leucyl aminopeptidases.*

LIF: *Leukaemia inhibitory factor.*

lncRNA: ARN largo no codificante.

LOH: *Loss of heterozygosity.*

LOX: *Lysyl oxidase.*

LT α : *Lymphotoxin-alpha; Tumour Necrosis Factor-beta.*

MAF: *Minor allele Frequency.*

MALDI-TOF: *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization.*

MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase. MAP-kinase.*

MCP: *Membrane Cofactor Protein Precursor.*

MDSCs: *Mieloid-derived suppressor cells.*

MEK-1 (MAP2K1): *Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1.*

Met: Metionina.

mg: Miligramo.

MHC (CMH): *Major Histocompatibility Complex; Complejo mayor de histocompatibilidad.*

MICs: *Células inflamatorias mononucleares.*

MIF: *Macrophage Migration Inhibitory Factor.*

MIF-AS1: *MIF antisense RNA 1.*

MIP: *Macrophage Inflammatory Protein-2.*

Min: Minuto.

miRNA: Micro ARN.

MKR-4: *Mitogen activated protein kinase kinase 4.*

ml: Mililitro.

MLKL: *Mixed Lineage Kinase Domain-like protein.*

mM: Milimolar.

MMPs: *Matrix metalloproteinases.*

MMR: *DNA Mismatch Repair.*

MPC-1: *Mitochondrial pyruvate carrier 1.*

MSC: *Multiple Cloning Sites.*

My88: *Dimeric myeloid differentiation protein 88.*

N: Tamaño de la población.

n: Tamaño de la muestra.

NAD(P)H: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.

NALP3: *NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3.*

NCBI: *National Centre for Biotechnology Information.*

NER: *Nucleotid Scission Repair.*

NFATc1: *Nuclear Factor of Activated T cells, cytoplasmic 1.*

NF-IL6 (CEBPB): *a Nuclear Factor for IL-6 expression.*

NF- κ B: *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.*

NHEJ: *Non-homologous end joining; Recombinación no homóloga.*

NIF: *NF- κ B-inducing kinase.*

NKT: *Natural Killer T cell.*

NP: *Neuropoetin.*

NPM: Negativo por malignidad.

OMS (WHO): Organización mundial de la salud; *World Health Organization.*

OR: *Odds ratio.*

OSM: *Oncostatin M.*

P38 MAPK: *p38 Mitogen Activated protein kinases.*

PAMP: *Pathogen associated molecular patterns.*

PBMC: *Peripheral Blood Mononuclear Cells.*

PCa: *Prostate cancer; Cáncer de próstata.*

PCR: *Polymerase Chain Reaction.*

PGE-2: Prostaglandina E2.

PGHS-2: *Prostaglandin-endoperoxide synthase-2; prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase.*

pi: Frecuencia alélica.

pI: Punto isoelectrico.

PI3K: *Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase.*

PIA: Atrofia intraepitelial prostática.

PIAS: *Protein Inhibitors of Activated STATS.*

PIN: Neoplasia intraepitelial prostática.

PKC- δ : *Protein kinase C delta type.*

PMN: *Polymorphonuclear leukocytes.*

PPRB²: Plataforma en Red de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos.

PRR: *Pattern Recognition Receptor.*

PSA: *Prostate Specific Antigen.*

PSAc: PSA complejo

PSAI: PSA libre.

PuZ: Zona periuretral de la próstata.

PZ: Zona periférica de la próstata.

RA: Receptor de andrógenos.

RAF-1 (c-Raf): *RAF proto-oncogene serine/Threonine-protein kinase.*

RANKL: *Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B ligand.*

RANTES (CCL5): *Regulated on Activation Normal T cell expressed and secreted.*

REDECAN: Red Española de Registros de Cáncer.

RNS: Especies reactivas de nitrógeno.

ROR- α : *RAR-related orphan receptor alpha.*

ROR- γ t: *Receptor tyrosine kinase-like orphan receptors.*

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

Rpm: Revoluciones por minuto.

RR: Riesgo relativo.

RUNX1: *Runt-related transcription factor 1.*

SAP: *Shrimp alkaline phosphatase.*

SCC: *Squamous cells carcinoma.*

SDF-1 α : *Stromal Cell derived factor 1.*

s.e.: Error estándar.

SEFIR: *Similar Expression to FGF receptor/IL-17R).*

SERGAS: *Servizo Galego de Saúde.*

SF2: *pre-mRNA-splicing factor SF2.*

SHBG: *Sex hormone binding globulin.*

SHP2: *Src Homology-2 Domain-containing Tyrosine Phosphatase.*

SMAD: *(Small) Mothers Against Decantaplegic.*

SNP: *Single Nucleotid Polymorphism.*

SOCS: *Suppressor of Cytokine Signalling.*

SOD1: *Superoxide dismutase 1.*

SSLP: *Simple Sequence Length Polymorphisms.*

STAT: *Signal Transducer an Activator of Transcription.*

STR: *Short Tandem Repeat.*

T^a: *Temperatura.*

T-bet: *a T-box transcription factor.*

TAB-2: *Membrane-bound TAK-binding protein 2.*

TACE: *TNF- α converting enzyme.*

TAK-1 (MAP3K7): *Mitogen-activated protein 3-kinase 7.*

TE: *Transposable Elements.*

TFB5: *Transcription factor-binding site.*

TGF- β : *Transforming Growth Factor beta.*

Th17: *Células T 17 colaboradoras.*

TIR: *Toll Interleukin Receptor.*

TLR: *Toll Like Receptor.*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor alpha.*

TNFR: *Receptor de TNF.*

TNM: *Tumour-node-metastasis.*

Tollip: *Toll Interacting Protein.*

TRADD: *TNF receptor associated death domain.*

TRAF: *TNF Receptor Associated Factor.*

TRAIL: *Ligando de TNF relacionado con la apoptosis.*

Treg: *Células T reguladoras.*

TSP-1: *Thrombospondin 1.*

Tyk-2: *Tyrosine kinase 2.*

TZ: Zona de transición de la próstata.

U: Unidades.

UPA: *Urokinase type plasminogen activator.*

UTR: *Untranslated region.*

VCAM: *Vascular cell adhesion molecule.*

VDR: Receptor nuclear de vitamina D.

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor.*

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

Vit. D: Vitamina D.

VNTR: *Variable Number of Tandem Repeats.*

xg: *Times gravity.*







1. INTRODUCCIÓN.



1.1. La próstata: Consideraciones generales.

1.1.1. ESTRUCTURA ANATÓMICA Y DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA.

La próstata es la glándula sexual accesoria más grande del sistema genital masculino. Forma parte de los órganos genitales internos pese a que por su posición y relaciones está asociada a los órganos urinarios (Fig. 1). Está situada por debajo de la vejiga urinaria, detrás de la sínfisis del pubis, delante del recto, por encima de la membrana perineal y del espacio perineal profundo. Rodea al origen de la uretra masculina y está atravesada por los conductos eyaculadores. Mide alrededor de 3,5 cm en su base y aproximadamente 2,5 cm, tanto en su dimensión vertical como anteroposterior, y su peso normal es de unos 18 gramos. Es un órgano rudimentario durante la infancia que se desarrolla en la pubertad, manteniéndose firme y elástica hasta los 50 años, a partir de los cuales sufre una involución fibrosa, pudiendo ser el foco de neoformaciones tanto benignas como malignas, entre las que se encuentra el cáncer de próstata (PCa) (Álvarez, 2005; Latarjet, Liard, & Pró, 2004; Ross & Pawlina, 2013).

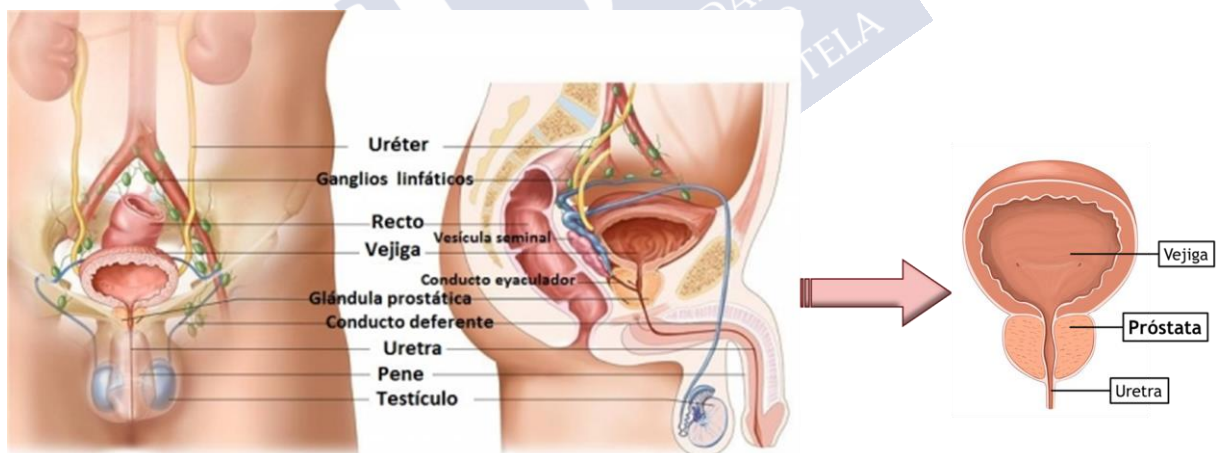


Figura 1. Sistema genital y urinario masculino. Fuente Instituto Nacional del Cáncer ("Más que salud," 2018; Winslow, 2005).

La próstata está envuelta por una cápsula fibrosa que emite prolongaciones hacia el interior del órgano. Su base o cara superior tiene una forma aproximadamente triangular, con la porción más ancha hacia atrás. La porción de la uretra prostática se encuentra más cerca del vértice anterior que del posterior. La base de la próstata está dividida, mediante una cresta transversal formada por lobulillos supero-mediales, en una región anterior correspondiente al cuello de la vejiga urinaria y una región posterior o hilio que aloja la formación de los conductos eyaculadores y los elementos vasculares. El hilio de la próstata está limitado por una banda de tejido glandular, correspondiente a los lobulillos ínfero-posteriores. El vértice de la próstata se sitúa en la parte inferior, por donde emerge la uretra (Álvarez, 2005; Latarjet *et al.*, 2004).

La próstata está compuesta en un 70% de elementos glandulares, que ocupan aproximadamente las dos terceras partes del tejido contenido dentro de la cápsula prostática. El 30% restante es el denominado estroma fibromuscular, consistente en colágeno y músculo liso. Los elementos glandulares están formados por 30-50 glándulas túbulo-alveolares dispuestas en tres capas concéntricas: una capa mucosa interna, una capa submucosa intermedia y una capa periférica que contiene las glándulas prostáticas principales. Las glándulas de la capa mucosa secretan directamente hacia la uretra; las glándulas de las otras dos capas poseen conductos que desembocan en los senos prostáticos ubicados a cada lado de la cresta uretral en la pared posterior de la uretra (Álvarez, 2005; Latarjet *et al.*, 2004; Ross & Pawlina, 2013).

La próstata es un órgano difícil de sistematizar, por lo que a lo largo de los años se ha ido clasificando de diferentes formas en función de diversos enfoques: morfológico, anatómico, histológico, funcional, clínico, etc. Tradicionalmente, se describieron cinco lóbulos prostáticos. El lóbulo anterior situado delante de la uretra, es fibromuscular y prácticamente carece de tejido glandular. Se corresponde con el istmo o comisura de la próstata. El lóbulo posterior está ubicado detrás de la uretra y por debajo de los conductos eyaculadores. Es un lóbulo más largo que se va estrechando hacia la parte inferior. Los lóbulos laterales derecho e izquierdo, situados a ambos lados de la uretra, constituyen la mayor parte de la próstata. Las dos caras inferolaterales, oblicuas hacia abajo y medialmente en sentido vertical y de medial a lateral en sentido anteroposterior, están relacionadas con la fascia pelviana y con el músculo elevador del ano. Ambos lóbulos laterales están divididos por una ligera depresión denominada escotadura prostática. El lóbulo medio se halla entre la uretra y los conductos eyaculadores y tiene estrecha relación con el cuello de la vejiga (Álvarez, 2005).

La Terminología Anatómica Internacional sistematiza las porciones de la próstata basándose en la aplicación de técnicas macroscópicas de disección (Tisell & Salander, 1984), combinándolas con los distintos tipos histológicos. El parénquima prostático se divide, mediante un plano sagital, en dos lóbulos prostáticos, derecho e izquierdo, compuestos por lobulillos glandulares y por el istmo de la próstata. Cada lóbulo prostático se subdivide en cuatro lobulillos de tejido glandular (Álvarez, 2005):

- Lobulillo inferoposterior, ubicado periféricamente, forma la cara posterior y se extiende hasta el vértice de la próstata.
- Lobulillo inferolateral, de posición periférica y que constituye la mayor parte de la cara inferolateral de la próstata.
- Lobulillo superomedial, de situación central, por detrás de la uretra y rodeando el conducto eyaculador; se encuentra en la mitad superior de la próstata.
- Lobulillo anteromedial, ubicado centralmente, lateral y un poco anterior con respecto a la uretra.
- Los lobulillos inferoposteriores e inferolaterales (periféricos), unidos por delante por el istmo, forman un cono hueco, en cuyo interior se ubican los lobulillos superomediales y anteromediales (centrales).

Por otra parte, el estudio ecográfico y su correlación con la histología, la aparición de patologías, así como su origen embriológico han permitido la descripción de cuatro zonas prostáticas glandulares denominadas Zonas de McNeal (Fig. 2), así como el estroma fibromuscular anterior (Álvarez, 2005; Ross & Pawlina, 2013).

1. Zona de transición (TZ): rodea la uretra prostática, constituye el 5% del tejido glandular prostático y contiene las glándulas mucosas. Es en esta zona en la que se produce hiperplasia (aumento anormal del tamaño de un órgano) y formación de masas nodulares de células epiteliales con la edad. Por su posición dichos nódulos pueden comprimir la uretra causando dificultad miccional.

2. Zona central (CZ): esta área rodea los conductos eyaculadores conforme atraviesan la próstata, contiene alrededor del 25% del tejido glandular y es resistente tanto a los carcinomas como a la inflamación. Las células de esta zona poseen características morfológicas distintivas, con citoplasma apenas basófilo y núcleos más grandes desplazados a diferentes alturas en las células contiguas. Esta zona se origina embriológicamente en la inclusión de células del conducto mesonéfrico de la próstata en desarrollo.

3. Zona periférica (PZ): constituye el 70% del tejido glandular de la próstata, rodea la zona central y ocupa la parte posterior y las porciones laterales de la glándula. La mayor parte de los carcinomas prostáticos se originan en esta zona. Es la más susceptible a la inflamación y palpable en el tacto rectal.

4. Zona periuretral (PuZ): contiene glándulas mucosas y submucosas. En las etapas avanzadas de la hiperplasia esta zona puede sufrir una proliferación patológica, sobre todo de los componentes del estroma.

5. Estroma fibromuscular anterior (AFS): El estroma fibromuscular anterior está compuesto por tejido conjuntivo denso no modelado con una gran cantidad de fibras musculares lisas, y se encuentra en la superficie anterior de la próstata, por delante de la uretra. Rodea y envuelve la región del ápex y de la base prostática. Carece de glándulas y no sufre ningún proceso patológico.

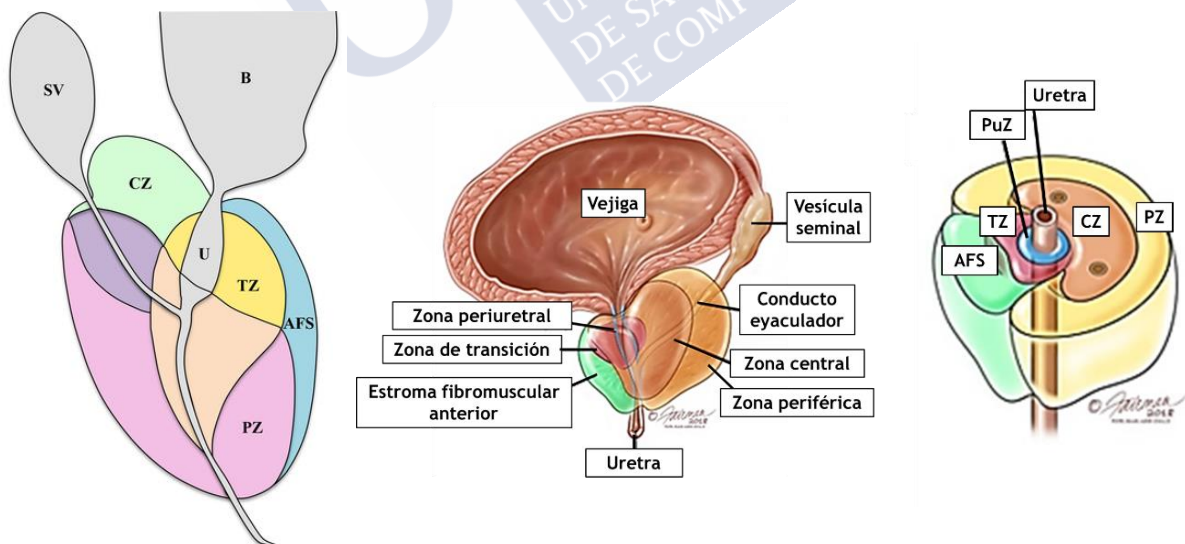


Figura 2. Zonas de McNeal. SV (Vesícula Seminal), B (Vejiga), U (Uretra), CZ (Zona Central), TZ (Zona de Transición), AFS (Estroma fibromuscular anterior), PZ (Zona Periférica), PuZ (Zona Periuretral). Fuente Association, 2003; B. Kim & Kim, 2013.

En cuanto a la organización celular de la próstata hay cuatro tipos celulares principales que forman la región glandular de la misma (Álvarez, 2005):

- Células epiteliales: Están bien diferenciadas y contienen abundantes gránulos secretorios ricos en PSA (antígeno prostático específico) y fosfatasa ácida, entre otros componentes. Se unen lateralmente con otras células mediante moléculas de adhesión celular y se fijan a la membrana basal a través de integrinas. Tienen el núcleo en la base y microvellosidades en el borde apical, rico en gránulos y enzimas para la secreción de productos que se drenan a través de los ductos que se conectan con la uretra.

- Células basales y células madre: Son más pequeñas y están en menor cantidad que las células epiteliales. Su forma es redondeada, con grandes núcleos y prácticamente sin productos de secreción. Las células basales en la membrana basal pueden identificarse mediante anticuerpos monoclonales (anticitoqueratinas). Se cree que dan origen a las células epiteliales secretoras, de modo que funcionan como células madre.

- Células neuroendocrinas: Están entre las células epiteliales de los ductos y acinos del tejido, dispersas entre el epitelio secretor. Pertenecen al grupo de células APUD (*Amine Precursor Uptake and Decarboxylation*) y su función en la próstata es regular la actividad secretora y el crecimiento celular mediante la secreción de aminas (serotonina) y péptidos hormonales.

- Acinos: Se localizan en las regiones central y periférica de la próstata. Poseen un rico plexo de nervios autónomos y fibras nerviosas. Producen un péptido intestinal vasoactivo.

El estroma mielostático está formado por tejido conectivo, con fibras musculares que se entrelazan con el tejido glandular, permitiendo la secreción de los productos prostáticos (semen). Al igual que sucede con otros órganos semejantes, la próstata está cubierta de tejido conectivo denominado cápsula prostática.

1.1.2. SIGNIFICADO FUNCIONAL DE LA PRÓSTATA.

La función principal de la próstata consiste en secretar el líquido seminal, que optimiza las condiciones para la fertilización del semen y que constituye la mayor parte del volumen del eyaculado. Es un líquido ligeramente alcalino, con efecto tamponador, que aumenta la motilidad y supervivencia de los espermatozoides. La próstata produce secreciones que protegen al tracto urinario inferior y al sistema reproductor de las lesiones causadas por agentes patógenos en la uretra. Además, junto con las glándulas de Cowper, es el origen de los factores de licuefacción del semen (Álvarez, 2005; Latarjet *et al.*, 2004; Ross & Pawlina, 2013).

Es uno de los principales órganos diana para la testosterona, ya que es en la próstata donde esta hormona masculina se transforma en dihidrotestosterona (DHT), una hormona más activa. Ambas hormonas son dos de los principales esteroides sexuales del hombre (andrógenos) junto con la androstenediona. Los andrógenos, incluida la testosterona, se producen esencialmente en los testículos, concretamente en las células de Leydig, desde donde la testosterona difunde por la membrana y actúa sin canales específicos sobre el receptor androgénico a través de su metabolito activo, la dihidrotestosterona. Participan en varios procesos biológicos, entre los que se encuentran el desarrollo normal del pene, escroto, testículos, glándulas sexuales accesorias y la aparición de las características sexuales secundarias en la pubertad. El eje hipotálamo-hipófisis-gónadas regula la síntesis y secreción de los andrógenos que pueden alcanzar los

órganos diana en forma libre o unidos a la SHBG. Los efectos biológicos de ambos andrógenos son mediados a través del receptor de andrógenos (RA), al que se unen en el citoplasma para alcanzar el núcleo celular y allí encajar en secuencias específicas de ADN de los órganos diana (Durán *et al.*, 2011; Uribe-Arcila, 2005).

Gracias al mecanismo de acción del receptor androgénico en la próstata, es posible regular la expresión de varios genes, produciéndose la síntesis de proteínas implicadas en la estimulación del desarrollo y el mantenimiento funcional y estructural de este órgano. Por lo tanto, las funciones de la próstata están reguladas por la interacción entre los receptores androgénicos y los andrógenos que viajan por el torrente sanguíneo (Durán *et al.*, 2011; Uribe-Arcila, 2005).

Las células epiteliales de los ductos y el acino de la próstata producen el antígeno prostático específico (PSA, *prostate specific antigen*), proteína de 30 kDa perteneciente a la familia de las kalicreínas, utilizada como marcador bioquímico para la detección precoz y el control de pacientes con cáncer de próstata. El PSA es secretado al lumen prostático, donde se adhiere a las semenogelina I y II en el coágulo seminal, mediando en la fluidez del semen. La finalidad del PSA es licuar el semen eyaculado y así permitir la movilización de los espermatozoides (Balk, Ko, & Bubley, 2003; National Cancer Institute, 2019a; Ormachea-Salcedo, Sánchez-Enríquez, Callisaya-Huahuamullo, & Salcedo-Ortiz, 2011).

1.1.3. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DE LA PRÓSTATA.

La próstata es un órgano heterogéneo en el que se desarrollan múltiples patologías, siendo las más frecuentes la prostatitis, la hiperplasia benigna de próstata (HBP) y el cáncer de próstata (PCa).

El término prostatitis define los procesos de naturaleza inflamatoria o infecciosa que afectan a la glándula prostática (Fig. 3). Se consideran, al igual que en el caso de la hiperplasia benigna de próstata, procesos benignos. Es una patología muy común en los hombres, que en el caso de la prostatitis aguda suele relacionarse con infecciones bacterianas y puede producirse en hombres de cualquier edad. La sintomatología de este tipo de prostatitis consiste en infección urinaria, inflamación prostática y bacteriemia (presencia de bacterias en el torrente sanguíneo). El tratamiento es generalmente exitoso y se basa en la administración precoz de antibióticos, AINES y abundantes líquidos. En cuanto a la prostatitis crónica se caracteriza por ser una infección prostática repetida a lo largo del tiempo. Sus síntomas son semejantes a los de la prostatitis aguda pero no tan severos, llegando a ser asintomática en algunos casos. El tratamiento es complicado ya que no siempre se encuentra el origen bacteriano concreto de la infección. Sin embargo, las prostatitis más comunes son las no bacterianas, frecuentemente crónicas, que también afectan a varones de cualquier edad. Su etiología, así como los síntomas no son tan claros como en los casos anteriores (Rodríguez-López, Baluja-Conde, & Bermúdez-Velásquez, 2007).

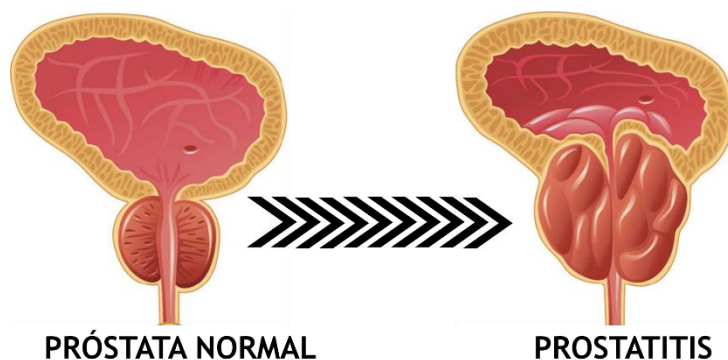


Figura 3. Efecto de la prostatitis (Pedrosa, 2019).

La Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP) se define como el crecimiento no maligno en el tamaño de la próstata debido a un aumento excesivo de glándulas y estroma. Se produce en los hombres a medida que aumenta la edad, debido al aumento relativo de los estrógenos con respecto a la testosterona, siendo una de las enfermedades más frecuentes en hombres adultos de avanzada edad. La primera fase de desarrollo conlleva un aumento en el número de nódulos, primero estromales y después glandulares. Posteriormente se produce crecimiento extremo de dichos nódulos, que a su vez implica un incremento de la resistencia uretral, que compensatoriamente lleva a un incremento progresivo de la presión del músculo detrusor (músculo liso que forma parte de la pared de la vejiga urinaria). Esto a su vez produce cambios a nivel celular en dicho músculo, caracterizados por el aumento de tamaño de los espacios intercelulares, patrones de hipertrofia muscular y el aumento de los depósitos de fibrina intercelular. La consecuencia habitual es una disminución de la calidad de la contracción muscular del detrusor. A medida que crece la próstata ésta puede ir comprimiendo progresivamente la uretra hasta provocar, entre otros efectos, dificultad en la micción. Otras consecuencias de la HBP son las retenciones de orina en la vejiga, el reflujo de la orina hacia los riñones y la necesidad frecuente de miccionar. El sistema urinario puede llegar a bloquearse completamente. Todos estos síntomas podrían confundirse en origen con el cáncer de próstata y, para evitar dicha confusión, se establece un diagnóstico diferencial consistente en la cuantificación de PSA, ecografía prostática y tacto rectal y, por último, biopsia (De Marzo *et al.*, 2007; Rodríguez-López *et al.*, 2007).

La inflamación crónica causa alteraciones, como metilación del ADN, que pueden conducir al cáncer de próstata. Existen dos estados considerados premalignos desarrollados a partir de daño celular acumulativo y secuencial producido por los mismos factores que desembocan en el carcinoma prostático. Estos dos estados son la Atrofia Proliferativa Inflamatoria (PIA) y la Neoplasia Intraepitelial Prostática (PIN) (Fig. 4). Si los factores nocivos se perpetúan en el tiempo y se agregan otros nuevos el resultado es el desarrollo de un carcinoma prostático histológicamente constituido (Uribe-Arcila, 2005).

La Atrofia Proliferativa Inflamatoria (PIA) agrupa la mayoría de lesiones atróficas que implican un incremento de la fracción de células epiteliales que proliferan en lesiones atróficas puntuales. Estas lesiones no se relacionan con el descenso de andrógenos y se presentan como focos aislados de glándulas atróficas rodeadas por glándulas de apariencia normal en la zona epitelial. Estas zonas atróficas aparecen debido a fallos en la diferenciación de células epiteliales a columnares secretoras, especialmente en la periferia. Así, el epitelio no forma proyecciones papilares abundantes y las células luminales tienen escaso citoplasma y núcleo

central pequeño, redondeado a ovoide con nucléolo no evidente o levemente agrandado. Sin embargo, la membrana basal y la línea de células basales se mantienen íntegras. Muchas de las células proliferativas en la PIA se encuentran en el compartimento luminal, lo que produce cambios en la fidelidad topográfica de la proliferación, tal y como ocurre en la PIN. Las lesiones con infiltración de inflamación tanto crónica como aguda se asocian con la atrofia epitelial puntual (Benedetti-Padrón & Reyes, 2014; De Marzo *et al.*, 2007; Uribe-Arcila, 2005).

Pacientes con HBP presentan epitelio aparentemente atrófico que podría ser considerado PIA. En estudios morfológicos se han observado transiciones entre epitelio atrófico y carcinoma, además de frecuentes transiciones entre áreas de PIA y atrofia proliferativa con alto grado de neoplasia intraepitelial prostática (PIN) (Fig. 4) (Benedetti-Padrón & Reyes, 2014; De Marzo *et al.*, 2007).

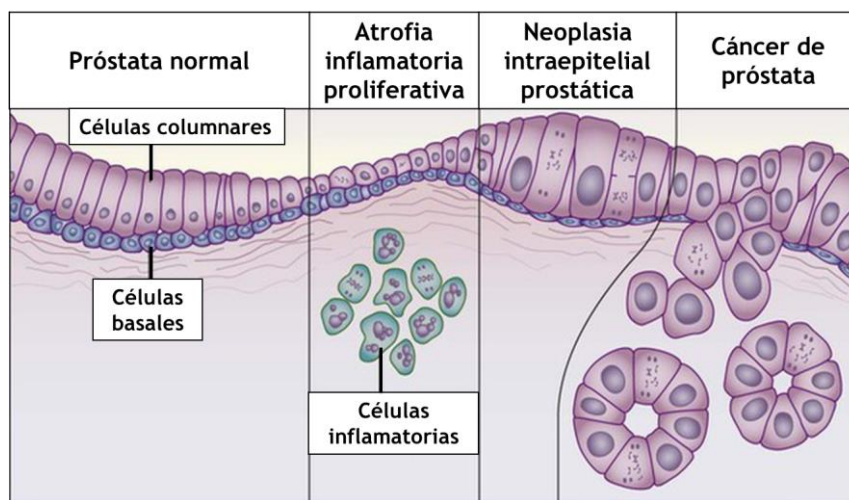


Figura 4. Evolución de las patologías prostáticas. Fuente Benedetti-Padrón & Reyes, 2014.

La Neoplasia Intraepitelial Prostática (PIN) es una lesión caracterizada por células con rasgos neoplásicos (atipia nuclear, desorganización de la arquitectura celular sin afectar a la membrana basal) y se considera la precursora más probable para la mayoría de los adenocarcinomas de próstata. Se localiza en los ductos y acinos del epitelio glandular prostático, que presentan cambios citológicos anticipatorios del cáncer. Se da, al igual que el cáncer, predominantemente en la zona periférica de la próstata. Presenta una membrana basal y una línea de células basales adelgazada pero íntegra. Sin embargo, hasta un 2% de los focos de PIN pueden mostrar alteración de la capa de células basales y ruptura de la membrana basal, siendo ambos cambios histológicos previos al cáncer. Además, la PIN tiene otras características que la asemejan al adenocarcinoma, ya que es multifocal, presenta aumento de alteraciones nucleares, se dan variaciones en el contenido del ADN y se incrementa la inestabilidad genética. Esta patología puede ser de bajo o alto grado, siendo la segunda la que se relaciona de forma más inmediata con el desarrollo de cáncer de próstata. La PIN precede al adenocarcinoma en unos 5 años y aumenta unas 15 veces el riesgo para el paciente de padecer en el futuro cáncer de próstata. El diagnóstico de PIN de alto grado implica entre un 30-50% de probabilidad de padecer cáncer de próstata (De Marzo *et al.*, 2007; Uribe-Arcila, 2005).

1.2. El proceso inflamatorio.

Hace 2.000 años el médico Aulus Cornelius Celsus definió la inflamación como una secuencia de síntomas: rubor, calor, tumefacción y dolor. En la actualidad se considera, esencialmente, una reacción protectora y restauradora del cuerpo con la que éste trata de volver a alcanzar un estado de homeostasis. Es una respuesta fisiológica a diversos estímulos, entre los que se encuentran infección, procesos autoinmunes, lesión tisular u otros traumatismos locales (Kindt, Goldsby, & Osborne, 2007; Regueiro, López, González, & Martínez, 2011).

La inflamación es un mecanismo que puede eliminar el agente responsable del daño e iniciar la reparación del tejido mediante una respuesta inmunitaria bien coordinada. Dicha respuesta consiste en un conjunto de reacciones llevadas a cabo por el organismo para hacer frente y prevenir la infección, comenzando por una fase de reconocimiento seguida de una respuesta frente al daño. Hay dos tipos de respuesta inmunitaria, la innata y la adaptativa. La inmunidad innata representa la segunda línea de defensa del cuerpo ante una situación extraña (la primera son las defensas externas) y no implica un reconocimiento específico de antígenos. Incluye a los fagocitos, la inflamación, las células NK (*natural killer*), el complemento y algunas citoquinas, como los interferones. Por otro lado, la inmunidad adaptativa reconoce antígenos extraños y depende de moléculas específicas como los anticuerpos o ciertas citoquinas producidas por linfocitos, o directamente de los linfocitos B y T, cuyas respuestas incluyen las fases de reconocimiento, activación (proliferación y diferenciación de clones) y función efectora. El proceso inflamatorio integra, además, mecanismos inhibidores que tienden a equilibrar o finalizar la respuesta (Eiró & Vizoso, 2012; Kindt *et al.*, 2007; Regueiro *et al.*, 2011; Taverna *et al.*, 2015).

La inflamación es, por lo tanto, un sistema de vigilancia del organismo frente a estímulos concretos, que permite una respuesta rápida a través de la sangre. El daño tisular o la presencia de patógenos produce la liberación de mediadores solubles, en su mayor parte moléculas de estructura elemental, como las citoquinas, liberadas o sintetizadas por los mastocitos o por otras células del sistema inmune, como los fagocitos. Los fagocitos pueden eliminar ciertos patógenos o, en caso de que esto no sea suficiente, pueden secretar citoquinas y otros mediadores inflamatorios que atraerán a otras células inflamatorias al foco de infección. Las moléculas liberadas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos, es decir, se produce vasodilatación, aumento de la permeabilidad y adhesión de los vasos sanguíneos y diapédesis (paso de elementos formes de la sangre a través de ventanas de los vasos sanguíneos hacia el lugar de la infección). De esta forma se favorece la llegada de todos los elementos inmunitarios necesarios (tanto moléculas como células inmunes) para actuar sobre el foco de infección. El incremento de células, así como la vasodilatación que se produce en la zona infectada, es a su vez lo que provoca la hinchazón, enrojecimiento y dolor propios de la inflamación. Además de la señalización que permite la actuación de las moléculas y células del sistema inmune, el proceso inflamatorio también integra mecanismos regulatorios y mecanismos de reparación, ya que el paso final es reparar el tejido dañado durante el proceso de infección. De este modo, la respuesta inflamatoria finalizará con un proceso de reparación

total o parcial del tejido dañado, ya fuera por el patógeno o por la propia inflamación (Fig. 5). Por lo tanto, el mecanismo inflamatorio se caracteriza por una comunicación coordinada, transmitida a través de la sangre, entre el tejido dañado y los órganos de la respuesta inmune (Eiró & Vizoso, 2012; Regueiro *et al.*, 2011).

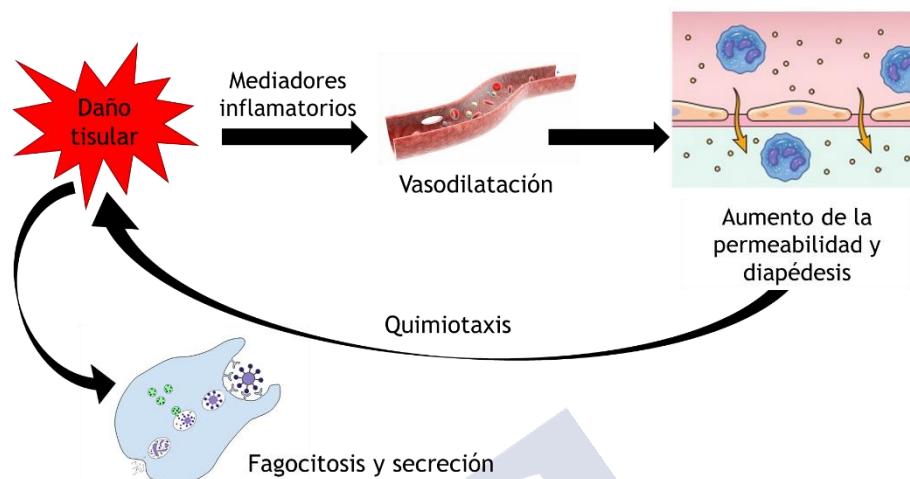


Figura 5. Fases de la respuesta inflamatoria.

La reacción inflamatoria puede ser localizada o generalizada. En la reacción inflamatoria localizada los macrófagos tisulares activados secretan tres citoquinas (IL-1, IL-6 y TNF- α) que inducen muchos de los cambios locales y generales que se observan durante la reacción inflamatoria. Estas citoquinas actúan a nivel local y causan coagulación y un incremento de la permeabilidad vascular. Tanto el TNF- α como la IL-1 inducen el aumento de la expresión de moléculas de adherencia sobre las células endoteliales, además de facilitar la producción de las quimioquinas que contribuyen a la entrada de los neutrófilos en los tejidos. Además, IFN- γ y TNF- α activan macrófagos y neutrófilos y suscitan su actividad fagocítica y un incremento de la liberación de enzimas líticas hacia los espacios tisulares (Kindt *et al.*, 2007).

La reacción inflamatoria localizada se puede dar sin la participación manifiesta del sistema inmune. Sin embargo, a menudo las citoquinas que se liberan en el lugar de la inflamación, facilitan la adherencia de las células del sistema inmunitario a las células endoteliales vasculares, así como su migración a través de la pared vascular hacia los espacios tisulares. Como resultado se produce el ingreso de linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y mastocitos del sistema tisular lesionado, produciendo la depuración del antígeno y la cicatrización de los tejidos. Muchos efectos generales de la fase aguda de la inflamación se deben a la acción combinada de las citoquinas de la reacción inflamatoria localizada (IL-1, TNF- α e IL-6), las cuales actúan sobre el hipotálamo para inducir una reacción febril (Kindt *et al.*, 2007).

En algunas enfermedades la activación inmunológica persistente puede ocasionar inflamación crónica, que a menudo tiene consecuencias patológicas. La inflamación crónica se da cuando el antígeno persiste llegando a producir lesiones tisulares graves. También es característica de enfermedades autoinmunes en las que autoantígenos actúan de forma continuada sobre las células T. Por lo tanto, la inflamación crónica contribuye a la lesión tisular y a la emaciación (adelgazamiento patológico generalmente por pérdida de masa muscular) que acompaña a muchos tipos de cáncer (Kindt *et al.*, 2007).

1.2.1. INFLAMACIÓN Y CÁNCER.

Se estima que entre el 20 y el 25% de los tumores malignos humanos en adultos son resultado de estados inflamatorios crónicos. Este proceso es desencadenado por agentes infecciosos, por exposición a factores ambientales o por una combinación de ambos (De Marzo *et al.*, 2007). La inflamación conduce a una excesiva remodelación tisular, a la pérdida de la arquitectura del tejido y a modificaciones en el ADN y proteínas como consecuencia del estrés oxidativo, todos ellos factores de riesgo para el desarrollo del cáncer. La conexión entre ambas patologías tiene dos rutas: una extrínseca donde las condiciones de inflamación facilitan el desarrollo del cáncer y una ruta intrínseca en la que las alteraciones genéticas que llevan al cáncer también estimulan el proceso inflamatorio (Fig. 6) (Vendramini-Costa & Carvalho, 2012).

En la ruta extrínseca, la inflamación favorece el desarrollo tumoral en distintos niveles. Por un lado, las células inflamatorias mononucleares (MICs), presentes en las primeras fases del tumor, se asocian a áreas de hiperplasia y atipia, lo que apoya la idea de que las células inflamatorias contribuyen a la iniciación del tumor y a la progresión tumoral inicial. Los mastocitos y neutrófilos también pueden colaborar en el desarrollo tumoral mediante la regulación y liberación de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y factores de crecimiento, que fomentan el reclutamiento de células inflamatorias adicionales. Asimismo, el NF- κ B es uno de los principales nexos entre inflamación y tumorigénesis, pudiendo ser clave en la evasión de la apoptosis en células preneoplásicas y malignas. Así, estos factores pueden actuar como iniciadores y promotores de carcinogénesis (Eiró & Vizoso, 2012).

En cuanto a la ruta intrínseca, hay distintos tipos de alteraciones genéticas que estimulan tanto el cáncer como la inflamación, ya que la inestabilidad genética puede facilitar la progresión del tumor (De Marzo *et al.*, 2007).

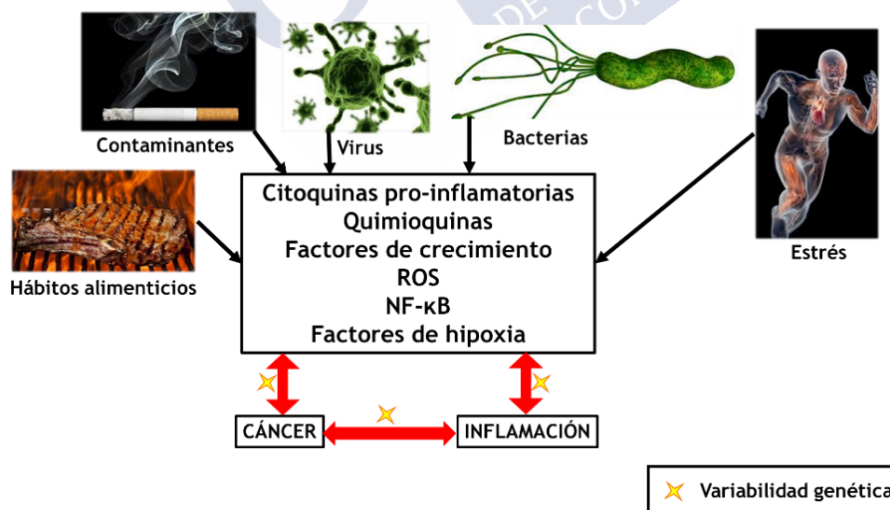


Figura 6. Relación entre inflamación y cáncer.

Hay varios tipos de cáncer cuyo origen se ha asociado significativamente con procesos inflamatorios concretos, como es el caso de la infección por *H. pylori* y el cáncer gástrico, la colitis ulcerosa y el cáncer colorrectal o la hepatitis y el cáncer hepatocelular (Eiró & Vizoso, 2012).

1.2.2. INFLAMACIÓN Y CÁNCER DE PRÓSTATA.

Existen varias fuentes potenciales para la inflamación prostática, como son los agentes infecciosos, reflujo urinario, traumatismo físico o químico, estrógenos, factores dietéticos o *Corpora amylacea* (De Marzo *et al.*, 2007; Sfanos & De Marzo, 2012).

Varios estudios muestran el papel potencial de la inflamación prostática asintomática causada por microorganismos e infecciones en el cáncer de próstata. Sin embargo, puede haber diferencias en la prevalencia de inflamación prostática correlacionada con el riesgo de alto grado de cáncer de próstata. Estudios preliminares muestran que la inflamación crónica observada mediante biopsia de tejido benigno no servía como predicción de un elevado riesgo en el diagnóstico de cáncer de próstata y especialmente con enfermedad de alto grado (De Marzo *et al.*, 2007; Sfanos & De Marzo, 2012). Las marcas histológicas de la inflamación crónica se encuentran tanto en tejido prostático maligno como benigno (Taverna *et al.*, 2015).

Hay evidencias de que la presencia de patógenos en el sistema urinario puede contribuir a la transformación del epitelio prostático en maligno a través de la activación de TLRs (*Toll-like Receptors*). Todas esas evidencias indican que señales biológicas obtenidas de los TLR-activados de células tumorales también pueden constituir un vínculo entre inflamación y cáncer (Eiró & Vizoso, 2012).

Estudios histológicos a lo largo de décadas han permitido el reconocimiento de la inflamación y de mediadores inmunitarios como participantes activos en la patogénesis, vigilancia y progresión del cáncer de próstata. Se sabe que son interacciones complejas las que regulan las células inmunitarias en el microambiente tumoral. Las células del sistema inmune con infiltración en el cáncer de próstata incluyen células asociadas con la respuesta inmune innata, como los macrófagos, neutrófilos, mastocitos y NK; así como células asociadas con la respuesta inmune adaptativa, como linfocitos T y B. Un incremento en la proliferación de células luminales está asociado con la inflamación, probablemente aumentando la susceptibilidad del epitelio para transformarse. La infiltración inflamatoria está principalmente representada por linfocitos T CD3⁺, linfocitos B CD20⁺ y macrófagos. Muchos estudios sugieren que la inflamación puede ser importante en la patogénesis del cáncer de próstata produciendo una alteración del ambiente del tumor pudiendo contribuir a la evasión inmunológica del tumor y a la agresividad del cáncer (Taverna *et al.*, 2015).

La repetición de daño y muerte celular al epitelio prostático se da como resultado de daño oxidativo de origen inflamatorio producido en respuesta a patógenos, enfermedades autoinmunes, reflujo de orina a la próstata o toxinas. Morfológicamente este daño aparece como PIA, antecedente y efecto circundante del cáncer de próstata. Biológicamente se manifiesta en el incremento en la proliferación de células epiteliales con fenotipo intermedio entre células basales y luminales maduras. Únicamente en un subconjunto de células se producen alteraciones genéticas somáticas, tales como la metilación de citosina en las islas CpG del gen GSTP1 y el acortamiento telomérico, lo cual puede reducir el genotipo protector e incrementar la inestabilidad genética que podría dar inicio al PIN de alto grado y la formación de PCa temprano. Hay ciertas células, como aquellas con función de “vigilancia”, en las que se dan cambios adicionales: reordenamiento genético, activación de expresión de genes *Myc* y pérdida de genes supresores de tumores (De Marzo *et al.*, 2007).

En términos de inflamación asociada al ambiente carcinógeno, se ha sugerido que la inflamación en y alrededor del cáncer de próstata está asociada con peor pronóstico de la enfermedad. De la misma forma, el riesgo de PCa y de PCa de alto grado se incrementa con la inflamación asociada a las biopsias (Sfanos & De Marzo, 2012).

1.2.3. INFLAMACIÓN, DAÑO CELULAR Y REPARACIÓN.

Las alteraciones en el ADN son un vínculo común entre inflamación y reparación de ADN, ya que están presentes durante el proceso inflamatorio y se acumulan durante la inflamación crónica. Cuando la reparación del daño no es completamente eficaz se favorece el desarrollo del cáncer (Kidane *et al.*, 2014). La señal proinflamatoria se transmite a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), que pueden identificar el peligro a través de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs), tales como ROS (especies reactivas de oxígeno) o fragmentos de ADN circulante, citoquinas o quimioquinas liberadas por el tejido dañado o patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). El papel inicial de este proceso es eliminar la invasión e iniciar la reparación del tejido (Pálmai-Pallag & Bachrati, 2014).

Las células inflamatorias activadas (macrófagos y neutrófilos) producen ROS y RNS (especies reactivas de nitrógeno) como respuesta al daño celular o la inflamación en un proceso denominado “estallido o explosión respiratoria” (*respiratory burst*). Además, estas células también producen gran cantidad de oxidantes, como superóxido, H₂O₂, HOCl, NO* y NO₂*. Estas especies reactivas surgen de la acción enzimática de oxidasas NADPH (NOXs) y de sintasas óxido nítrico (NOS) o de escisiones homolíticas no-enzimáticas. Tanto ROS como el H₂O₂ son productos tóxicos de la explosión respiratoria, así como efectores de rutas de señalización inductoras del reclutamiento celular inmune y adaptativo, proliferación, recuperación tisular, supervivencia celular o apoptosis (Ohnishi *et al.*, 2013; Pálmai-Pallag & Bachrati, 2014).

La presencia de ROS y de RNS, actuando como mediadores de la inflamación, daña el ADN mitocondrial y nuclear, lo cual induce inestabilidad genómica y pérdida de la homeostasis. El ADN dañado es, en sí mismo, una señal de peligro que induce rutas de señalización para su propia reparación, para la respuesta inflamatoria e inmune o la muerte celular, en caso de ser necesaria para reestablecer la homeostasis tisular, así como para el mantenimiento de la estabilidad genómica y la supervivencia. Como mensajeros secundarios ROS contribuyen a la cascada de señalización inductora de respuesta inmune innata mediante una matriz de elementos de señalización “*downstream*” funcionalmente diversos, como es la activación de NK-κB, STAT1, HIF-1α, IRF3 y CASP1. De esta manera ROS pueden inhibir proteínas claves en la maquinaria de la reparación del ADN (Ohnishi *et al.*, 2013; Pálmai-Pallag & Bachrati, 2014).

El daño provocado por ROS se incrementa con la edad, con enfermedades crónicas y el cáncer. En su reparación participan las principales rutas de reparación de ADN: mediante BER (*base excision repair*) se reparan los sitios abásicos; los cruces intercatenarios, así como las lesiones nucleotídicas más grandes se reparan mediante NER (*nucleotide excision repair*) (Fig. 7); las bases desapareadas (mismatch) y los lazos con pequeñas inserciones/deleciones son reparadas mediante MMR (*DNA mismatch repair*); dependiendo del estado del ciclo celular, las DSB (*double strand break*) serán reparadas por recombinación homóloga (HR) o no homóloga (NHEJ). De la misma forma que la inflamación y daño mediado por ROS aumentan, también lo hace la actividad de las rutas de reparación vinculadas al incremento en la expresión

de genes de reparación y respuesta inflamatoria, sin embargo, paralelamente ROS puede dañar o inhibir proteínas de dichos procesos (Pálmai-Pallag & Bachrati, 2014).

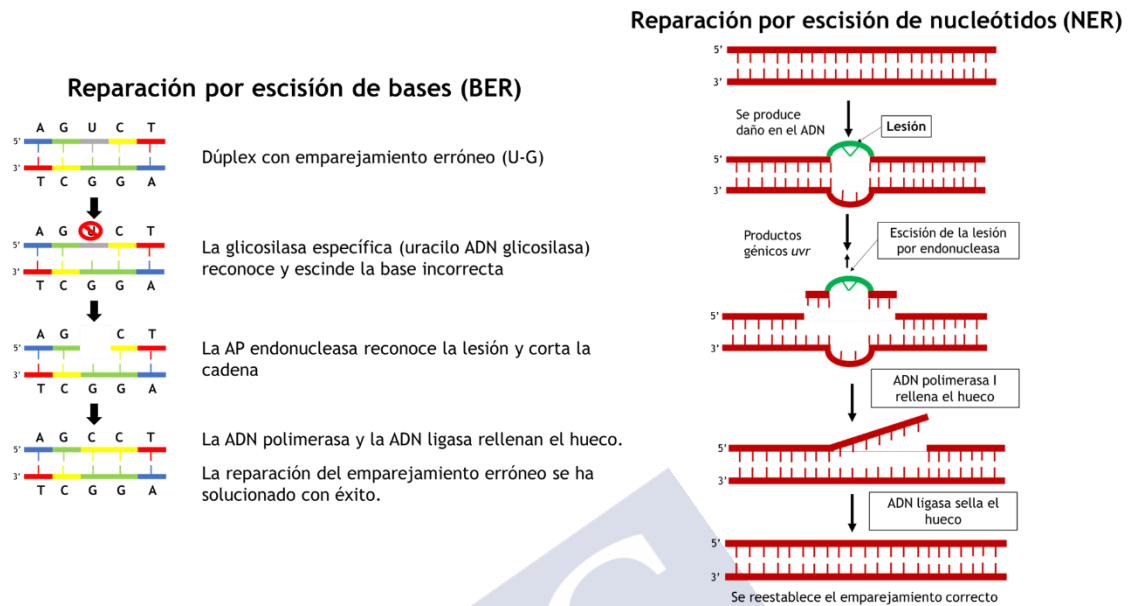


Figura 7. Rutas principales de reparación de ADN. A la izquierda la ruta de reparación por escisión de bases (BER). A la derecha la de escisión de nucleótidos (NER). Basada en Alberts, Wilson, & Hunt, 2016.

En la inflamación crónica ROS permanece en niveles elevados con lo que se reduce la eficacia de la reparación del ADN y la respiración mitocondrial es disfuncional, lo que puede llevar a la acumulación de daño en el ADN. Cuando estas lesiones oxidativas no se reparan correctamente, el daño prolongado lleva a la parada del ciclo celular, la senescencia, la apoptosis o la necrosis y de ahí a la degradación celular. Después de estos procesos el ADN fragmentado puede unirse a la circulación vascular y al espacio intracelular sin ser reconocido como antígenos por el sistema inmune. Así, los procesos inflamatorios prolongados inhiben la reparación de ADN produciendo, eventualmente, el cáncer (Ohnishi *et al.*, 2013; Pálmai-Pallag & Bachrati, 2014).

La inflamación crónica puede incrementar las lesiones en el ADN a través de la producción de ROS/RNS y puede llevar a la proliferación celular mediante la activación de células madre por regeneración tisular. El vínculo entre mutaciones de ADN, inestabilidad genómica y desarrollo tumoral está bien establecido, además de estar ampliamente reconocido que la inflamación crónica es un factor de susceptibilidad para el cáncer. Por lo tanto, la pérdida de homeostasis inmune y una prolongada inflamación aguda provocada por diferentes fuentes induce la producción de ROS, que a su vez media un elevado daño oxidativo de ADN y reduce la capacidad de reparación. Este es un proceso que se retroalimenta ya que las células dañadas o muertas por este proceso van a liberar ROS y ADN dañado. Esto induce inflamación secundaria en células distantes no dañadas como señal de estrés, lo cual lleva a inflamación crónica o al cáncer. El balance entre estas rutas contradictorias es delicado y tiene como objetivo eliminar la inflamación crónica, la pérdida de estabilidad genómica promoviendo la reparación de ADN o inducir la apoptosis eliminando células con mutaciones protumorigénicas no reparables. El daño en el ADN mediado por ROS y RNS puede participar en la carcinogénesis mediante la activación de protooncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores (Ohnishi *et al.*, 2013; Pálmai-Pallag & Bachrati, 2014).

1.3. El Cáncer de Próstata (PCa).

1.3.1. CARCINOGENÉISIS.

El cáncer es un término genérico utilizado para agrupar las enfermedades en las que las células se dividen anormalmente, sin control y evitan la muerte celular. Cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren y células nuevas las reemplazan. Sin embargo, en el cáncer este proceso se descontrola y a medida que las células se hacen más anormales, las células viejas o dañadas sobreviven en vez de morir y células nuevas se forman sin ser necesarias. Estas células adicionales pueden dividirse sin interrupción y formar masas denominadas tumores, que pueden ser benignos o malignos. Los tumores malignos son los denominados como cáncer y sus células pueden extenderse a los tejidos cercanos, además de difundirse a otras partes del cuerpo a través de los sistemas sanguíneo y linfático. Pueden empezar en casi cualquier zona del cuerpo, recibiendo nombres específicos, de modo que el carcinoma es un cáncer que empieza en el epitelio, el adenocarcinoma empieza específicamente en el epitelio glandular, el sarcoma empieza en hueso, cartílago, músculo u otros tejidos conectivos o de apoyo, la leucemia empieza en tejidos productores de sangre, etc. (García-Foncillas, 2003; *National Cancer Institute*, 2019a).

El cáncer se considera como una enfermedad multifactorial debida a la interacción de genes y factores ambientales, de tal modo que variaciones genéticas en dichos genes pueden tener un papel patológico o protector en la aparición del cáncer. En el desarrollo de los tumores pueden estar implicados genes de distinta naturaleza, por ejemplo, reguladores del ciclo celular, del desgaste telomérico o de la senescencia celular (DeVita, Hellman, & Rosenberg, 2005; Guttmacher & Collins, 2002; Uribe-Arcila, 2005).

Hay una serie de características que definen al cáncer (Sanz-Ortiz, 2006):

- Es una enfermedad genética estructural o funcional, para cuyo desarrollo son necesarias varias lesiones genéticas que pueden darse en tres tipos de genes: supresores, reparadores y proto-oncogenes.
- Tiene un origen clonal.
- Produce alteración en la proliferación y diferenciación celular que conduce a un crecimiento autónomo incontrolado.
- Posee capacidad de invasión local, así como distante (metástasis).
- El resultado final es la autodestrucción (muerte del huésped).
- Su frecuencia es heterogénea en función del tejido, siendo más frecuente en tejidos epiteliales de recambio rápido.

Hay tres tipos principales de genes implicados en el desarrollo del cáncer: los proto-oncogenes, cuya alteración se vincula con el desarrollo del cáncer mediante una mutación de ganancia de función que genera potencial oncogénico; los genes supresores de tumores cuyas mutaciones implican pérdida de función y los genes encargados de mantener la estabilidad genómica. Los genes supresores de tumores, también llamados anti-oncogenes, oncogenes

recesivos o genes de susceptibilidad al cáncer tienen como función inhibir la proliferación de células cancerosas. Las mutaciones que dan lugar a oncogenes tienden a ser dominantes mientras que las mutaciones en genes supresores de tumores son normalmente recesivas. Esto ha llevado a desarrollar el modelo de dos eventos (*two-hit*) de la carcinogénesis, propuesta por Knudson en 1993 (Fig. 8). El escenario que plantea este modelo es el siguiente: los individuos normales al nacer portan dos alelos salvajes en los *loci* supresores de tumores. Con el tiempo aparecen mutaciones espontáneas en esos *loci* que producen un alelo no funcional. Se espera que la mutación sea recesiva respecto al alelo salvaje que todavía está presente, con lo que no habría consecuencias fenotípicas. Más adelante, eventos adicionales pueden llevar a la pérdida del alelo salvaje, fenómeno que recibe el nombre de pérdida de heterocigosidad (*loss of heterozygosity*, LOH). La pérdida de la heterocigosidad proporciona una contribución tangible al fenotipo maligno. Sin embargo, dado que las mutaciones espontáneas en un *locus* específico y la pérdida de un segundo alelo específico son eventos raros, la malignidad no suele desarrollarse hasta pasado un largo periodo de latencia. Por otra parte, algunos individuos nacen con una mutación inicial, con lo que solamente sería necesaria la segunda mutación para que se dé el fenotipo cancerígeno. De esta manera, al producirse la pérdida de un alelo el peso del funcionamiento normal recaería sobre el otro alelo que, al tener la primera mutación hereditaria, no podría llevar a cabo de forma adecuada la función del gen (DeVita *et al.*, 2005; García-Foncillas, 2003).

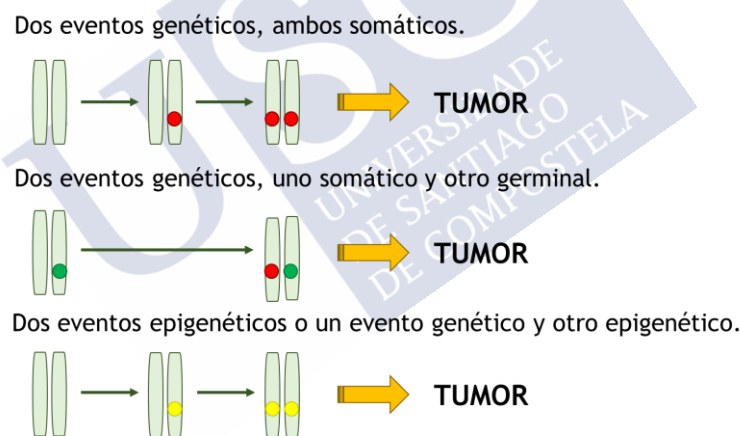


Figura 8. Hipótesis de Knudson para genes supresores de tumores. Basada en "ResearchGate | Find and share research," n.d.

Los genes supresores y los reparadores de ADN se agrupan, según algunos autores, en una misma categoría llamada "genes supresores de tumores", que a su vez se divide en los *gatekeepers*, que englobaría los genes supresores de tumores tradicionales, inhibidores de la proliferación celular y promotores de la apoptosis; y los *caretakers*, genes que al mutar promueven el crecimiento del tumor de forma indirecta, causando inestabilidad genética y aumentando la tasa de mutación en otros genes. Estas nuevas categorías de agrupación se diferencian según el número de mutaciones necesarias para el desarrollo de un tumor, de modo que, tras la mutación heredada de un *gatekeeper* sólo se necesita una segunda mutación somática para que el tumor se inicie. En cambio, tras la mutación heredada de un *caretaker* es necesario que se produzcan varias mutaciones somáticas sucesivas (García-Foncillas, 2003).

Para que se desarrolle el cáncer deben activarse proto-oncogenes y/o inactivarse los genes supresores de tumores. Estos eventos producen inestabilidad genética que a su vez propiciarán el desarrollo de un ambiente beneficioso para el desarrollo del tumor, en el que se suceden las mutaciones que dan lugar a un grupo de células con tendencia a la necrosis, al pleomorfismo y pleiotropismo. Además, las células tumorales tienen tendencia a la metilación de ADN que implica un daño genómico asociado. Por lo tanto, los tumores generalmente se caracterizan por activación o inactivación de genes específicos que acumulan inestabilidad y variabilidad genética, proliferación celular rápida con tendencia a la inmortalización, capacidad de angiogénesis y capacidad de metástasis (Uribe-Arcila, 2005).

1.3.2. CARCINOGENÉISIS PROSTÁTICA.

Entre el 90 y el 95% de los cánceres de próstata tienen origen epitelial glandular (adenocarcinomas), concretamente acinares, es decir, con origen en las células epiteliales glandulares de los acinos o los alveolos. Sin embargo, también se producen otros tipos de adenocarcinoma como son el ductal y el mucinoso, y en menor medida el carcinoma endometrioide, carcinoma neuroendocrino, carcinoma con células en anillo de sello, etc. (Alberts *et al.*, 2016).

De acuerdo a las variaciones histológicas, el desarrollo del cáncer de próstata podría dividirse en cinco fases, de las que posteriormente se extraerá el estadiaje de Gleason. En principio el tumor está formado por glándulas redondeadas, pequeñas, uniformes, con bordes bien definidos y estrechamente unidas entre sí (Fig. 9). A continuación, las glándulas se hacen más alargadas, su borde pierde definición y su relación es menos estrecha, con crecimiento del estroma. Posteriormente el tumor empieza a diferenciarse respecto a su forma y su tamaño. Las glándulas se oscurecen y aparecen células que proliferan rompiendo la membrana basal e infiltrando a los tejidos adyacentes. Con el tiempo las glándulas dejan de ser únicas y aisladas para formar grupos neoplásicos que invaden el tejido circundante. En esta fase las glándulas son grandes, irregulares y cribiformes. Finalmente, el tumor muestra epitelios cribiformes y papilares, sin diferenciación glandular y está compuesto por láminas, cordones, células aisladas o nidos tumorales sólidos con necrosis central. Este último grado describe un tumor poco diferenciado y anaplásico, es decir, el tumor prostático con peor pronóstico a partir de su descripción histológica. El desarrollo del tumor no se produce de forma homogénea, de modo que en un mismo caso se encontrará en el tejido prostático una mezcla de varios estadios de desarrollo y diferenciación (Gleason, 1992; Gleason *et al.*, 2017; Humphrey, 2004).

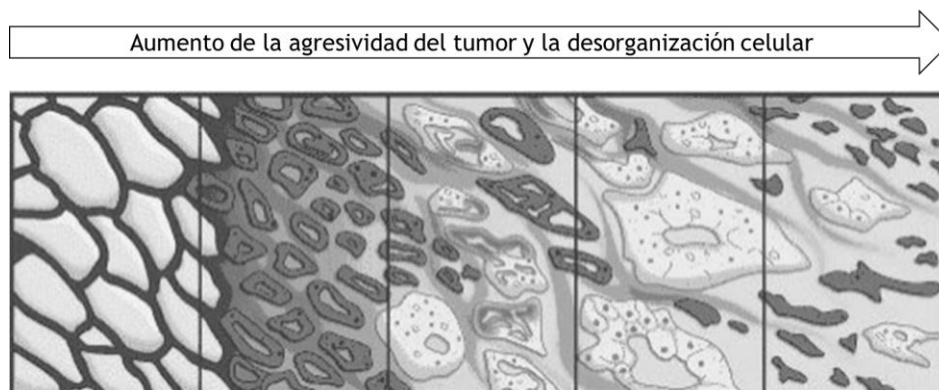


Figura 9. Cambios celulares en la progresión del PCa. Fuente Clinical Trials Arena, n.d.

Además de las variaciones a nivel tisular, también se producen cambios en la forma de las células. Núcleos poco redondeados, volumen nuclear variable, más de un nucléolo o elevada cantidad de heterocromatina se asocian con un tumor altamente desarrollado (Alberts *et al.*, 2016).

Durante la transformación maligna en la próstata, se da una vía aberrante de producción de los mismos factores de crecimiento que la próstata desarrolla en condiciones normales, predominantemente autocrinos y siempre favorables al desarrollo tumoral. Los mecanismos paracrinos del receptor androgénico son reemplazados por un mecanismo autocrino emergente, de modo que las células son cada vez menos dependientes de los factores celulares estromales. Las señales aberrantes provocan mutaciones de los factores de crecimiento, lo que a su vez produce pérdida de función, eliminación de señales inhibitorias del cáncer o activación de señales protumorigénicas. Todo ello está relacionado con el estado de malignidad del tumor, así como su agresividad fenotípica, es decir, producen cambios en la arquitectura del tejido y de su función (Uribe-Arcila, 2005).

El PCa presenta una conducta evolutiva variable, con un tiempo de doblaje estimado de $24 \pm 0,6$ años en tumores localizados y de $1,8 \pm 0,2$ años en tumores diseminados. En pacientes con metástasis la supervivencia media estimada es de 30 meses. Cuando el PCa pasa de localizado a diseminado el pronóstico del paciente varía, ya que la invasión ganglionar es un factor de mal pronóstico, reduciendo la supervivencia del individuo. Sin embargo, no todas las invasiones ganglionares implican un mismo nivel de mortalidad, habiendo otros factores a considerar. En PCa en progresión, el aumento tumoral se da por reducción de muerte celular más que por un incremento de la división celular.

1.3.3. ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO DE PCA.

Al igual que sucede en la mayoría de patologías, un diagnóstico temprano de cáncer de próstata mejora la eficacia de los tratamientos que puedan utilizarse y las posibilidades de curación del paciente. Sin embargo, el cáncer de próstata en sus estadios iniciales no muestra síntomas, por lo que la detección precoz generalmente se lleva a cabo mediante análisis rutinarios de la concentración de PSA en sangre y su progresión, así como mediante tacto rectal. En ambos casos son pruebas diagnósticas relativamente poco invasivas y que permiten la identificación del problema antes de manifestarse un cuadro sintomático evidente. En principio la presencia de síntomas se da en una fase avanzada del PCa, y éstos incluyen disuria (expulsión de orina dificultosa, dolorosa e incompleta), tenesmo vesical (deseo imperioso de orinar), polaquiuria (aumento de la frecuencia miccional), disuria y nicturia (aumento de la frecuencia miccional), retención de orina, pérdida de fuerza del chorro de la orina, goteo y hematuria terminal (sangre en la orina). En caso de que se llegue a dar metástasis, los síntomas iniciales más frecuentes son dolor lumbar, en la pelvis, los hombros o en diversas áreas óseas (DeVita *et al.*, 2005; EEUU, 2019).

El PSA está presente en diferentes formas, la mayoría en forma de PSA complejo (PSAc) unido a diferentes moléculas proteicas, y un pequeño porcentaje en estado libre, denominado PSAI y localizado en la sangre. Esta última forma generalmente es inactiva y es la que se cuantifica en la prueba del PSA. En dicha prueba se mide la concentración de PSA en sangre (ng/ml), es decir, su concentración sérica, y es el análisis más sensible utilizada para diagnosticar precozmente el cáncer de próstata cuando aún es asintomático. La transcripción del gen del PSA está regulada positivamente por el receptor androgénico. Su sobreexpresión en

pacientes con PCa refleja la elevada actividad transcripcional que se produce en la mayoría de cánceres prostáticos. La pérdida de la arquitectura glandular normal de la próstata en el PCa parece permitir al PSA incrementar su acceso directo a la circulación periférica. La prueba del PSA presenta considerables ventajas, dado que no es invasiva, sus efectos secundarios son nulos y su realización es rápida y de bajo coste. Sin embargo, también tiene ciertos puntos en contra, empezando por su baja sensibilidad, ya que en ciertos casos se dan resultados de PSA bajo en presencia de la enfermedad (falsos negativos). Además, también pueden darse falsos positivos, ya que este marcador no es indicativo únicamente del desarrollo tumoral en la próstata, sino también de prostatitis, hiperplasia, etc. (Balk *et al.*, 2003; EEUU, 2019; Ormachea-Salcedo *et al.*, 2011)

Por lo tanto, la relativamente baja sensibilidad y especificidad de la prueba de PSA en sangre se debe a que, pese a que en próstatas sanas los valores de PSA aumentan únicamente debido a la eyaculación y la estimulación de la próstata, también pueden darse diferencias individuales en el nivel basal de PSA, así como un incremento asociado a la edad y no necesariamente vinculado a una patología. Por otra parte, en próstatas afectadas por ciertas enfermedades (prostatitis, HBP o PCa) suelen encontrarse valores de PSA en sangre considerablemente elevados, aunque esto no sucede en el total de los casos y dicho aumento puede deberse a ciertas cirugías mientras que un falso negativo pueda deberse a fármacos que reducen la concentración de PSA libre. Así, no es sencillo asociar un nivel de PSA a una de estas patologías concretas. Tampoco es indicativo del tipo de PCa, de modo que una prueba de PSA positiva puede llevar a realizar pruebas más invasivas que serían innecesarias en casos de cáncer de próstata de crecimiento lento. Por ello se la considera una prueba con poca especificidad, indicativa de un problema prostático, pero no necesariamente de un cáncer de próstata que deba ser tratado (Balk *et al.*, 2003; Ormachea-Salcedo *et al.*, 2011; Pita-Fernández & Pértegas-Díaz, 2003).

No existe una concentración específica considerada normal de PSA en sangre, pero generalmente una concentración por debajo de 4 ng/ml se considera evidencia de una próstata sana, mientras que valores por encima de éste se consideran indicativos de una patología. La probabilidad de riesgo de cáncer de próstata se multiplica a partir de valores de PSA en sangre por encima de 10 ng/ml y a partir de ahí lo hará progresivamente (National Cancer Institute, 2019a; Ormachea-Salcedo *et al.*, 2011; Pita-Fernández & Pértegas-Díaz, 2003).

Por todo lo anterior, también se realizan otro tipo de pruebas como la del porcentaje del PSA libre, que indica la cantidad del PSA que circula libre comparado con el que está unido a proteínas. Dicha prueba permitiría, en principio, diferenciar entre HBP y PCa, ya que la relación entre ambos tipos de antígeno varía entre una enfermedad y otra. Además, en la actualidad se tienen en cuenta otras medidas como la velocidad de PSA, es decir, el ritmo al que varía la concentración de PSA en un hombre con el paso del tiempo. Esta medida se expresa en ng/ml por año y un rápido incremento sugiere la presencia de cáncer de próstata. Sin embargo, actualmente esta medida es más utilizada en el pronóstico que en el diagnóstico, ya que hay cierta controversia en su interpretación. Por último, una elevada densidad de PSA indicaría una alta probabilidad de tener PCa, pero esta prueba suele utilizarse en casos concretos como en el caso de próstatas de gran tamaño pero no cancerosas (American Cancer Society, 2019; Centers for Disease Control and Prevention, 2019; National Cancer Institute, 2019a).

El tacto rectal o examen digital del recto es una prueba llevada a cabo de forma rutinaria en varones a partir de 50 años. Mediante el palpado de la glándula prostática a través del recto se buscan nódulos, áreas de consistencia blanda o dura y otras anomalías. Esta prueba tiene ciertas limitaciones, entre las que se incluye la falta de detección en caso de que el tumor prostático se encuentre en el área de la próstata opuesta al tacto (*National Cancer Institute*, 2019a).

En los casos en los que el tacto rectal es positivo y el PSA es elevado se realiza una ecografía prostática transrectal y la biopsia transrectal de próstata, llevándose así a cabo el llamado mapeo prostático. La biopsia es una prueba en la que se recoge tejido prostático que se analizará para comprobar si es tejido tumoral y, en caso afirmativo, su grado histológico de desarrollo. En la actualidad se lleva a cabo guiada por ultrasonido, mejorando su eficiencia y reduciendo sus complicaciones. Sin embargo, la biopsia no siempre da el resultado correcto, produciéndose casos de falsos negativos y la necesidad de repetición. Además, es una prueba que puede causar complicaciones como hematuria, hemospermia o sangrado rectal. Las distintas categorías posibles en el diagnóstico mediante biopsia son (Castellanos-Hernández, Velázquez-Macías, Cruz García-Villa, Navarro-Vargas, & Figueroa-Zarza, 2013; Castillo-Jimenez, Bendaña-Lainez, & Sabillón-Vallecillo, 2005):

1. NPM (negativo por malignidad): Tejido sin evidencia de neoplasia. Incluye hiperplasia glandular o estroma prostático, atrofia y prostatitis.
2. AGF (atipia glandular focal): La histología revela un foco muy pequeño y/o glándulas citológicamente atípicas, pero que no llega a reunir criterios para clasificarla dentro de los parámetros de neoplasia.
3. PIN (neoplasia intraepitelial prostática): Glándulas con neoplasia intraluminal que aún no muestran evidencia de invasión estromal.
4. Carcinoma prostático (PCa): Presencia histológica de neoplasia intraepitelial prostática.

1.3.4. CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.

Incluso dentro del mismo tipo histológico de cáncer se dan, frecuentemente, subtipos diferenciables molecularmente. Estas diferencias suelen reflejar células de diferente origen y/o distinta lesión genética inicial. La clasificación temprana del tipo de cáncer es vital para la elección de tratamiento, así como para la orientación de pronóstico de la enfermedad. Clínicamente el PCa es una patología heterogénea, ya que hay pacientes cuyo tumor no varía con el paso de los años sin necesidad de tratamiento mientras que en otros casos la enfermedad progresa muy rápidamente. La clasificación histológica tradicional del PCa se lleva a cabo mediante la puntuación de Gleason (*Gleason score*) con una relativa utilidad predictiva (DeVita *et al.*, 2005). Para calcular la puntuación de Gleason se calcula el grado de indiferenciación de los tejidos afectados por el tumor, seleccionando los dos grados mayoritarios. El primero sería el prevalente o primario, con valores entre 1 y 5, y el segundo sería el siguiente en prevalencia, con valores posibles entre 1 y 5. La suma de ambos dígitos da como resultado el grado de Gleason, de forma que un valor total de 7 resultado de 4+3 será peor que uno de 3+4. Los valores posibles oscilan entre 2 (tumores muy bien diferenciados) y 10 (muy poca diferenciación) (Gleason *et al.*, 2017; Humphrey, 2004).

Otro método de clasificación del grado de cáncer de próstata es la clasificación TNM (*Tumor-Node-Metastasis*), sistema establecido por la AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) cuyos criterios son (*American Joint Committee on Cancer*, 2019; Jameson *et al.*, 2005):

➤ Tumor.

- ❖ Tx: No se puede evaluar el tumor primario.
- ❖ T0: No hay evidencias de tumor primario.
- ❖ T1: Tumor no evidente clínicamente
 - i. T1a
 - ii. T1b
 - iii. T1c
- ❖ T2: Tumor confinado en la próstata
 - i. T2a
 - ii. T2b
 - iii. T2c
- ❖ T3: Tumor que se extiende más allá de la cápsula prostática (T3a, T3b).
- ❖ T4: Tumor fijo o que invade estructuras adyacentes distintas de las vesículas seminales.

➤ *Node* (ganglios linfáticos regionales).

- ❖ Nx: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
- ❖ N0: No se demuestran metástasis ganglionares regionales.
- ❖ N1: Metástasis en ganglios linfáticos regionales.

➤ Metástasis (a distancia).

- ❖ Mx: No se pueden evaluar metástasis a distancia.
- ❖ M0: No hay metástasis a distancia.
- ❖ M1: Metástasis a distancia
 - ❖ M1a: Ganglios linfáticos no regionales.
 - ❖ M1b: Huesos.
 - ❖ M1c: Otras localizaciones.

Dependiendo del origen genético de la mutación también se puede clasificar el PCa en esporádico y hereditario. El cáncer esporádico, causado principalmente por factores ambientales, es mayoritario respecto al cáncer hereditario. En el cáncer de tipo esporádico las mutaciones genéticas vinculadas al cáncer se encuentran en las células del propio tumor, es decir, en aquellas células que han sufrido el proceso de transformación tumoral (García-Foncillas, 2003).

Pese a que la mayoría de los cánceres son de origen esporádico, entre el 5% y el 10% presentan un claro componente hereditario, es decir, se producen mutaciones en las células germinales que favorecen el desarrollo tumoral y que van a ser transmitidas de generación en generación. Dichas mutaciones, por tanto, están presentes en todas las células del organismo, incluido el tejido prostático. El cáncer hereditario suele implicar predisposición al desarrollo de tumores concretos, con mutaciones vinculadas al desarrollo tumoral presentes en todas las células del cuerpo. La susceptibilidad se manifiesta en distintos individuos de un grupo familiar a través de las generaciones según un patrón compatible con una segregación mendeliana. El cáncer hereditario suele aparecer a una edad más temprana que el esporádico, y el riesgo de desarrollarlo aumenta paralelamente con el grado de parentesco y el número de familiares que ya han padecido la enfermedad. Para que el PCa se considere hereditario debe cumplirse al

menos una de estas características: tres o más parientes en primer grado con cáncer de próstata; cáncer de próstata en tres generaciones de la misma rama de la familia; dos o más parientes cercanos, como un padre, un hermano, un hijo, un abuelo, un tío o un sobrino, de la misma rama de la familia a quienes se les haya diagnosticado cáncer de próstata antes de los 55 años. No hay que olvidar que la incidencia elevada de casos de cáncer en una familia no implica necesariamente una base genética, sino que pueden existir factores ambientales comunes a los miembros de dicha familia. Hay ciertos casos en los que, pese a afectar a varios miembros de una misma familia, no se conoce una base genética clara vinculada al cáncer. En estos casos parece haber una predisposición genética al desarrollo del tumor debida a un agente externo común. El cáncer de próstata familiar representa alrededor del 20% de los casos de PCa y se produce debido a una combinación de genes compartidos y factores ambientales o de estilos de vida compartidos (*American Society of Clinical Oncology*, 2019; de Oncología Médica, 2019; Ferris-i-Tortajada, García-i-Castell, Berbel-Tornero, & Ortega-García, 2011; García-Foncillas, 2003).

1.3.5. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.

La tasa de **incidencia** indica el número de hombres diagnosticados con cáncer cada año. Puede indicarse como un número absoluto o como el número de casos nuevos por cada 100.000 personas por año. En España, la información sobre la incidencia procede de los registros poblacionales consolidados que cumplen los indicadores de calidad fijados por la IARC (Agencia Internacional de Investigación y Cáncer), mientras que, la información sobre la incidencia de los registros mundiales se publica periódicamente en las monografías “*Cancer Incidence in Five Continents*” (*World Health Organization*, 2019a). Además, la IARC publica periódicamente estimaciones para países y grandes regiones geográficas incluidas en la base de datos GLOBOCAN (“ISCIII - Instituto de Salud Carlos III,” 2019; *World Health Organization*, 2019a, 2019b).

En las últimas décadas el número de diagnósticos de cáncer se ha incrementado de forma constante en España debido al aumento poblacional, a las técnicas de detección precoz y a la mayor esperanza de vida (de Oncología Médica, 2017). Según los registros más recientes, en España la mayor incidencia por cáncer en hombres se da en el País Vasco y Gerona, con tasas superiores a los 500 casos por 100.000 personas-año, mientras que la menor incidencia se ha registrado en Granada, con 402 casos por 100.000 personas-año (López-Abente, Núñez, Pérez-Gómez, Aragonés, & Pollán, 2015).

En 2015 en España se diagnosticaron 247.771 nuevos casos de cáncer, de los cuales 148.827 eran varones. En ambos sexos los tipos de cáncer más frecuentemente diagnosticados en el 2015 fueron colorrectal (41.441 casos), próstata (33.370 casos), pulmón (28.347 casos), mama (27.747 casos) y vejiga (21.093 casos). Sin embargo, en varones el tumor más frecuentemente diagnosticado en España en el año 2015 fue el cáncer de próstata, seguido de colorrectal, pulmón, vejiga y estómago (de Oncología Médica, 2017).

El cáncer de próstata es más común en varones de edad avanzada, con una historia familiar de PCa y en aquellos con ascendencia afroamericana (de Oncología Médica, 2019). Es el cáncer más frecuente en hombres a partir de los 60 años, mientras que entre 40-59 años el más frecuente es el cáncer de pulmón y en hombres más jóvenes el más frecuente es el de testículo. La incidencia de PCa presenta una distribución heterogénea en todo el mundo, tal y como se muestra en la gráfica de la figura 10. En España las zonas de mayor incidencia, como Girona y

País Vasco, presentan valores 1,67 veces superiores a las zonas de menor incidencia, como Granada. En el año 2012, se dio en España una tasa de incidencia de PCa ajustada a la población estándar europea ligeramente inferior a la media europea, con 103,4 frente a 110,8 casos por cada 100.000 habitantes/varones (“Asociación Española Contra el Cáncer: AECC,” 2019; López-Abente *et al.*, 2015).

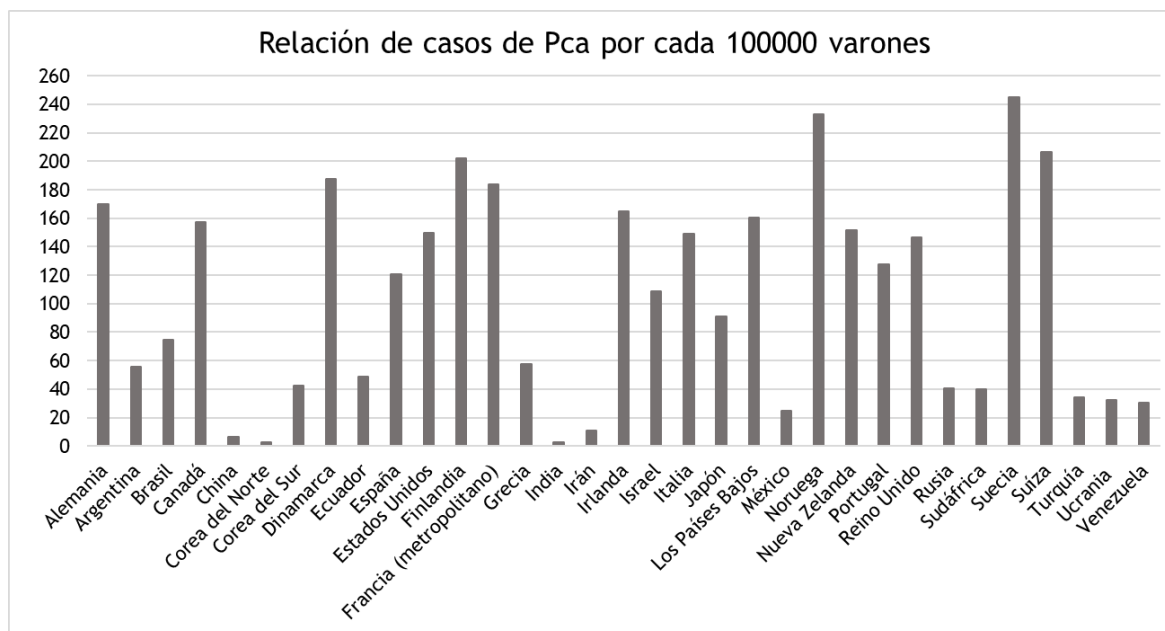


Figura 10. Incidencia de PCa a nivel mundial. Fuente “IARC - International Agency for Research on Cancer,” n.d.

La **prevalencia** es el número o proporción de la población con una enfermedad determinada durante un periodo de tiempo. Suele considerarse el número de pacientes diagnosticados que continúan vivos después de 3 o 5 años desde el diagnóstico. Así, la prevalencia está determinada por la supervivencia, de modo que los tumores con supervivencia menor tienen menor prevalencia, aunque se diagnostiquen más frecuentemente.

En el año 2012 el tumor con mayor prevalencia en España fue el PCa, tanto en población general como únicamente en varones (de Oncología Médica, 2017). Según los datos recogidos por la IARC, en el 2012 la prevalencia a 5 años en España para el PCa era de 527,3 siendo Moldavia el país con menor prevalencia de Europa (96,9) para este tumor, seguida de Albania (99,7), mientras que el país de mayor prevalencia fue Suecia (1137,1) seguido de Noruega (1065,2). Otros países con elevada prevalencia de PCa fuera del continente europeo son Australia (872,9), Canadá (796,6), Estados Unidos (793,1), Israel (516,9) y Japón (424,4), tal y como se observa en la figura 11 (World Health Organization, 2019c).

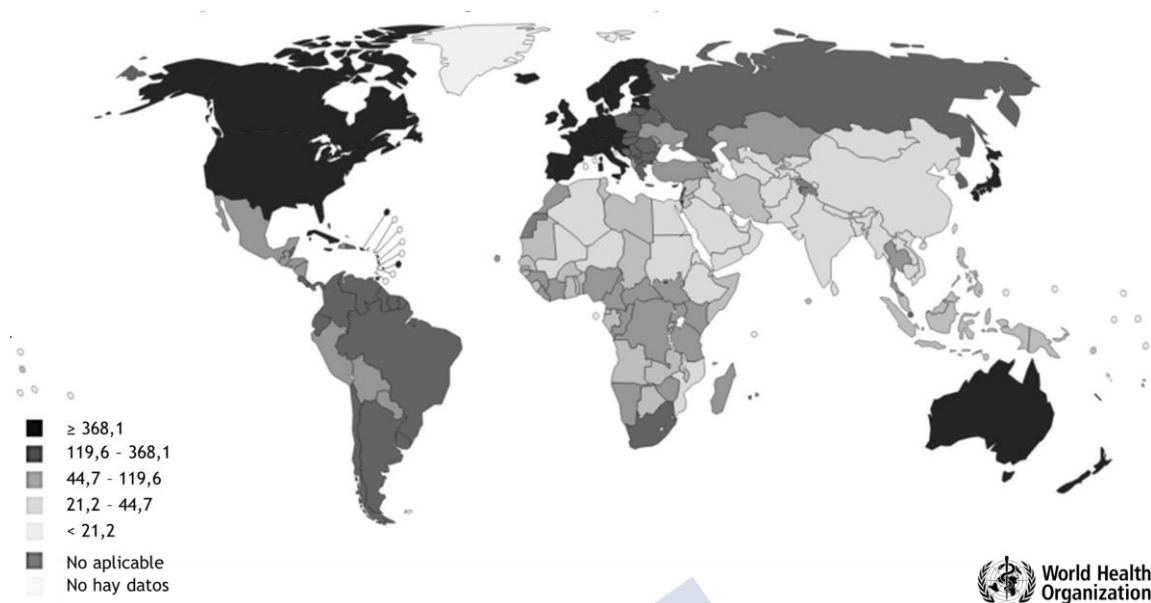


Figura 11. Prevalencia de casos de PCa a 5 años en varones en 2012 a nivel mundial. Fuente “Global Cancer Observatory,” n.d.; “IARC - International Agency for Research on Cancer,” n.d.

Se define como **mortalidad** el número de fallecimientos ocurridos en un periodo concreto de tiempo en una población determinada. Se expresa como el número de fallecimientos por año o por 100.000 personas por año.

De acuerdo a los datos de la OMS, en el año 2012 se contabilizaron aproximadamente 8,2 millones de muertes relacionadas con tumores. El mayor número de fallecimientos se asocian con el cáncer de pulmón (1,59 millones de muertes), el cáncer de hígado (745.000 fallecimientos), el cáncer gástrico (723.000 fallecimientos), el colorrectal (694.000 muertes), el de mama (521.000 muertes) y el de esófago (400.000 muertes) (de Oncología Médica, 2017).

En 2011 más de 70.000 hombres murieron por PCa en la Unión Europea, lo cual equivale al 1,5% del total de muertes por cualquier causa. Dependiendo de la región de Europa, la mortalidad por cáncer de próstata varía en una proporción de 1 a 3, ya que se observa un contraste entre regiones mediterráneas, con mortalidad por debajo del promedio, y el resto de países, donde hay importantes focos con mortalidad elevada. Se observa un patrón de la distribución de la mortalidad por PCa que refleja tasas generalmente altas en las regiones del noroeste europeo y tasas mucho más bajas en las regiones del sudeste (Books, 2015; de Oncología Médica, 2019).

Los tumores son considerados, en la actualidad, como la causa de muerte más frecuente entre los varones en España, responsables de 65.014 fallecimientos en 2014. De acuerdo con los datos de la Red Española de Registros de Cáncer (“REDECAN - Red Española de Registros de Cáncer,” 2019), en el año 2015, una de cada tres muertes en varones y una de cada cinco en mujeres en España, se debieron a tumores malignos. De acuerdo con los datos del INE, la principal causa de muerte en los hospitales españoles fueron los tumores, pese a que entre los años 2003 y 2012, la mortalidad por tumores se redujo un 1,32% al año. Los datos de mortalidad, a pesar de la reducción en la incidencia, refleja las mejoras en la supervivencia de pacientes gracias a la implementación de medidas preventivas, las campañas de diagnóstico precoz y los avances terapéuticos. La supervivencia de los pacientes con cáncer en España es

similar a la del resto de países del entorno, con un 53% a los 5 años. La supervivencia de los pacientes con cáncer ha aumentado en los últimos años en toda Europa. Dicho incremento de la supervivencia en el caso del cáncer de próstata podría estar relacionado con el diagnóstico precoz (de Oncología Médica, 2017; “ISCIH - Instituto de Salud Carlos III,” 2019).

Se estima que la mortalidad por cáncer en el año 2014 en España fue de 106.039 fallecimientos, 65.019 de los cuales eran varones. Los tumores responsables del mayor número de fallecimientos en 2014 en España en la población general fueron el cáncer de pulmón (21.220 muertes) y el cáncer colorrectal (15.449), seguidos a una gran distancia del cáncer de páncreas (6.278 muertes), cáncer de mama (6.213) y de próstata (5.855). En cuanto a varones, la mayor tasa de mortalidad en España en el 2014 fue el cáncer de pulmón (17.173 fallecimientos), seguido del cáncer de colon (6.951), próstata (5,855), vejiga (3.894), hígado (3.389), estómago (3.329) y páncreas (3.193). Los tumores con mayor mortalidad en varones no se han modificado en los últimos años, tal y como se puede comprobar en la evolución de las tasas de mortalidad entre los años 2013 y 2015 para el cáncer de próstata (Fig. 12) (de Oncología Médica, 2017).

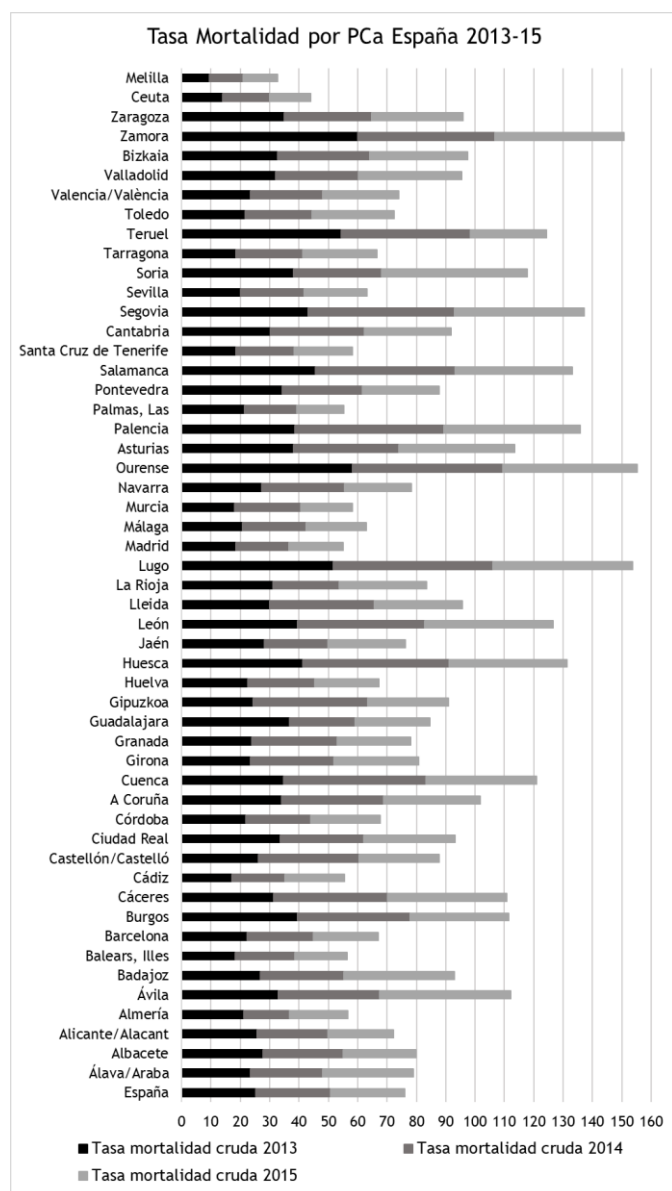


Figura 12. Tasa de mortalidad cruda por cáncer de próstata (PCa) entre los años 2013 y 2015. Fuente Centro Nacional de Epidemiología (“ISCIH - Instituto de Salud Carlos III,” 2019).

1.3.6. FACTORES DE RIESGO.

Un factor de riesgo es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumenta la probabilidad de desarrollar una enfermedad o lesión, en este caso el cáncer. En ocasiones, individuos que presentan varios factores de riesgo nunca llegan a desarrollar la patología, mientras que otros no expuestos a dichos factores sí lo hacen. No todos los factores de riesgo tienen el mismo efecto sobre el desarrollo del cáncer, además, se asocian distintos factores de riesgo a cada tipo de tumor. En algunos casos pueden evitarse mientras que otros factores son intrínsecos a la persona afectada y, por lo tanto, no pueden controlarse ni eliminarse (*American Cancer Society, 2019; American Society of Clinical Oncology, 2019; World Health Organization, 2019d*).

Las causas que conducen al desarrollo del cáncer de próstata no están completamente claras, pero sí se conocen una serie de factores estrechamente vinculados con el riesgo a desarrollarlo. Pese a la conocida importancia de los factores genéticos en el desarrollo del PCa, en muchos casos probablemente sea necesario, al menos, la existencia de algún otro tipo de factor para que se manifieste la enfermedad (Wolk, 2005).

A continuación, se describen brevemente los principales factores de riesgo asociados con el desarrollo de PCa.

1.3.6.1. Edad.

Es el principal factor de riesgo asociado con el cáncer de próstata, ya que es una enfermedad muy poco frecuente en hombres menores de cuarenta años. Se considera que el riesgo a desarrollar cáncer de próstata empieza a aumentar a partir de los cincuenta años en hombres caucásicos y a partir de los cuarenta en hombres de ascendencia subsahariana o en casos de cáncer de próstata hereditario. Aproximadamente 6 de cada 10 casos de cáncer de próstata se detectan en hombres mayores de 65 años, de tal modo que entre el 60 y el 80% de los casos de cáncer de próstata se diagnostican en hombres de 65 años o más (*American Cancer Society, 2019; American Society of Clinical Oncology, 2019; de Oncología Médica, 2019*).

Existe una relación directamente proporcional entre el incremento de edad y el riesgo a desarrollar cáncer de próstata, siendo menos del 0,6% los casos diagnosticados en varones con menos de 45 años. Esta relación puede deberse a las proliferaciones acinares atípicas y la neoplasia intraepitelial prostática (PIN) que aparecen con la edad. Estas patologías, que preceden al desarrollo del cáncer, necesitan de largos periodos de latencia para que se desarrollen. En el caso del PIN de bajo grado son necesarios 20 años, mientras que son necesarios otros 10 años para que alcance el alto grado y entre 3 y 15 años más para que llegue a convertirse en carcinoma clínicamente detectable (Ferrís-i-Tortajada *et al.*, 2011).

1.3.6.2. Origen geográfico y grupos poblacionales.

En varones de origen subsahariano el cáncer de próstata se da con una frecuencia más elevada que en otras poblaciones. Además de las elevadas tasas de incidencia también es más probable un desarrollo precoz de la enfermedad, así como de tumores más agresivos. Por el contrario, el cáncer de próstata presenta menor frecuencia en asiáticos y en latinoamericanos

que en otros grupos humanos (*American Cancer Society, 2019; American Society of Clinical Oncology, 2019*).

El cáncer de próstata es más común en Norteamérica y en la región noroeste de Europa, Australia, y en las islas del Caribe. Es menos común en Asia, África, Centroamérica y Sudamérica. Sin embargo, parece que está aumentando entre los asiáticos que viven en áreas urbanizadas, como Hong Kong, Singapur, y en ciudades de América del Norte y de Europa, particularmente, entre aquellos que llevan un estilo de vida más occidental (*American Cancer Society, 2019; American Society of Clinical Oncology, 2019*).

Las razones de estas diferencias interpopulacionales no están claras. Además de la variabilidad genética interpopulacional, es probable que el uso más extendido de pruebas de detección en algunos países desarrollados sea responsable, al menos parcialmente, de esta diferencia, pero también es posible que otros factores sean importantes, como diferencias en el estilo de vida (alimentación, contaminación, sedentarismo, etc.). Por ejemplo, los hombres de ascendencia asiática que viven en los Estados Unidos tienen un menor riesgo de cáncer de próstata que los estadounidenses blancos, pero mayor que el de los hombres que viven en Asia con antecedentes similares (*American Cancer Society, 2019*).

Al igual que en el caso de la incidencia, la mortalidad presenta variaciones en función del grupo humano, de tal modo que en varones de origen subsahariano es más del doble que en caucasoides, mientras que en asiáticos y latinoamericanos se dan las tasas más bajas (*American Cancer Society, 2019; American Society of Clinical Oncology, 2019*).

1.3.6.3. Dieta.

No está claro cuál es el papel exacto que desempeña la alimentación en el desarrollo del cáncer de próstata, aunque se han estudiado varios factores. Recientes estudios sugieren que el consumo elevado de grasas animales, así como de carne roja o productos lácteos altos en grasa, puede aumentar el riesgo de padecer cáncer de próstata. Los productos lácteos se han asociado positivamente con el desarrollo de PCa, y además se ha observado una relación más estrecha cuanto más avanzado es el estado del cáncer. Se ha especulado sobre los mecanismos biológicos de esta asociación entre los que se incluye el contenido en grasa de estos alimentos, el contenido en calcio (a su vez asociado con la regulación de niveles de 1,25 dihidroxivitamina D3) y la regulación de IGF-1 asociada al consumo de leche desnatada. La relación entre el desarrollo de PCa y el consumo de carne se ha estudiado ampliamente en los últimos años. El consumo de carne roja parece tener mayor efecto sobre el desarrollo del PCa que el de otros tipos de carne, además, el riesgo se ve incrementado a medida que aumenta el grado del tumor. Los mecanismos que explicarían esta asociación podrían ser la elevada ingesta de grasa asociada a la carne roja, al bajo consumo de antioxidantes y otros anticarcinógenos vinculados al consumo elevado de carne, al consumo de aminas heterocíclicas producidas por cocinar la carne roja a elevadas temperaturas y al elevado contenido en zinc de este alimento. Estos estudios no son concluyentes en todos los casos y los mecanismos biológicos son, en muchos casos, especulativos (*American Cancer Society, 2019; de Oncología Médica, 2019; Wolk, 2005*).

Ciertos componentes de los alimentos, como el selenio, el licopeno (presente en tomates y ciertas verduras) y la vitamina E se han analizado para valorar sus posibles efectos en la prevención del cáncer de próstata. No se ha demostrado que el uso regular de multivitaminas aumente o disminuya el riesgo de cáncer de próstata en estado inicial o localizado. El consumo

de pescado, probablemente debido a su contenido en ácidos grasos Omega-3 parece manifestar efecto preventivo frente al desarrollo de PCa, debido a su efecto antagonista frente al ácido araquidónico (*"Centers for Disease Control and Prevention,"* 2019; de Oncología Médica, 2019).

Otros componentes habituales de la dieta, como el café y el alcohol, también se han planteado como posibles factores de riesgo del PCa. Sin embargo, no se han obtenido resultados concluyentes en los estudios realizados hasta el momento.

1.3.6.4. Índice de masa corporal (IMC).

El IMC es un parámetro ampliamente estudiado en epidemiología del PCa, ya que se vincula con otros factores de riesgo como las hormonas sexuales o la dieta. En muchos estudios prospectivos se obtuvieron asociaciones positivas entre el IMC y la incidencia y mortalidad del PCa, sin embargo, no está confirmado si es el tejido adiposo o muscular el que tiene más relevancia en el desarrollo de la enfermedad (Ferrís-i-Tortajada *et al.*, 2011).

En la mayoría de los estudios se ha encontrado asociación entre la obesidad y el desarrollo de PCa, especialmente del grado más agresivo. Sin embargo, en otros casos se ha vinculado la obesidad con menor riesgo de PCa de bajo grado (*American Cancer Society*, 2019; de Oncología Médica, 2019). La obesidad, especialmente la variedad abdominal o central, se asocia con mayor riesgo de PCa localizado y metastásico, así como con mayor mortalidad. Dicha asociación está respaldada por los mecanismos metabólicos y hormonales inherentes a la obesidad, condicionantes de mayor riesgo neoplásico. La obesidad implica peor pronóstico para el PCa, debido al retraso en el diagnóstico y a la menor respuesta terapéutica. Por otro lado, la obesidad infantil muestra una asociación inversa con el riesgo a desarrollar la enfermedad en adultos, posiblemente debido al balance hormonal asociado: incremento de niveles plasmáticos de estrógenos y disminución de andrógenos (Ferrís-i-Tortajada *et al.*, 2011).

1.3.6.5. Tabaquismo.

El consumo tabáquico es uno de los factores de riesgo más estudiados en lo que al desarrollo de cáncer se refiere, sin embargo, la mayoría de los estudios no han encontrado asociación entre el hábito de fumar y el riesgo a desarrollar cáncer de próstata. Algunas investigaciones han vinculado el fumar con un posible pequeño aumento en el riesgo de morir a causa del cáncer de próstata, aunque estos resultados necesitan ser confirmados. No está clara la razón de la ambigüedad de los resultados, pero sí parece evidente que hay que tener en cuenta que al hablar de tabaquismo no sólo debe valorarse el hecho de fumar, sino la cantidad de tabaco que se consume y el tiempo que se lleva fumando. Además, parece tener importancia a su vez, en el caso de que los hombres no fumen en el momento del diagnóstico, el tiempo que hace que han abandonado el hábito (*American Cancer Society*, 2019; *"Centers for Disease Control and Prevention,"* 2019; Wolk, 2005).

1.3.6.6. Estrés oxidativo.

La inducción del estrés oxidativo provocado por especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) generadas durante la inflamación se han vinculado al desarrollo del PCa. La producción de estas especies reactivas en mitocondrias se ve incrementada con el envejecimiento y por ello se vinculan a patologías cuyo desarrollo se relacionen con la edad y el envejecimiento (Estrada-Carrasco *et al.*, 2010).

No hay métodos estandarizados para medir el estado de estrés oxidativo global en humanos. A partir del aumento en los niveles de expresión de las enzimas antioxidantes en individuos con PCa se infiere la existencia de respuesta al estrés oxidativo en células de la próstata. Entre las enzimas con papel en la regulación de dicho estrés, se evalúa la expresión de la catalasa y la superóxido dismutasa (SOD1) en el PCa y en la HBP, siendo los niveles de ambas enzimas en PCa mayores que en HBP (Estrada-Carrasco *et al.*, 2010).

1.3.6.7. Vasectomía.

En los últimos años se han llevado a cabo una serie de estudios y meta-análisis para comprobar si existe asociación entre la vasectomía y el riesgo a desarrollar cáncer de próstata. Algunos estudios sugieren que los hombres que se han sometido a una vasectomía presentan un riesgo ligeramente mayor de desarrollar cáncer de próstata a largo plazo (Husby, Wohlfahrt, & Melbye, 2019). Sin embargo, otros estudios no han hallado asociación entre el riesgo a desarrollar PCa y haberse sometido a esta operación (American Cancer Society, 2019; Davenport, Zhang, Leppert, Brooks, & Eisenberg, 2019).

1.3.6.8. Exposiciones ambientales.

Se conoce la existencia de sustancias tóxicas o dañinas para el ADN que pueden vincularse con el desarrollo del cáncer. Los xenobióticos son compuestos químicos, habitualmente contaminantes, ausentes en la composición de los seres vivos. La exposición a estas sustancias se vincula a estilos de vida y profesiones concretas. Por ejemplo, los bomberos están expuestos a productos tóxicos resultado de la combustión, los agricultores a múltiples tipos de plaguicidas o los trabajadores de la construcción a disolventes, pinturas, aislantes, etc. (American Cancer Society, 2019).

La exposición al sol es un factor de riesgo que se tiene muy en cuenta en el desarrollo del cáncer, especialmente el melanoma, pero un exceso de radiación solar puede producir daños en el ADN que podrían iniciar el desarrollo tumoral en otros órganos. Sin embargo, la baja exposición a la luz solar también es un factor de riesgo debido al déficit de vitamina D (vit. D) asociado (Bostwick *et al.*, 2004; Hsing & Chokkalingam, 2006).

1.3.6.9. Historia familiar.

Teniendo en cuenta el componente genético implicado en el desarrollo del cáncer, la historia familiar se manifiesta como un importante factor de riesgo. Tal y como se explicó en el apartado 3.2, aquellos varones con un familiar de primer grado diagnosticado de PCa tienen más probabilidad de desarrollar la enfermedad. En caso de que el padre y hermano de un hombre padezcan PCa se duplica el riesgo de que dicho hombre padezca la enfermedad. Asimismo, el

riesgo se incrementa en los hombres con un hermano con la enfermedad respecto a aquellos con un padre enfermo. De la misma forma el riesgo es mucho mayor en el caso de los hombres con varios familiares afectados, en especial si la enfermedad se desarrolló a edad temprana. La historia familiar no afecta únicamente al hecho mismo de desarrollar cáncer sino también a la edad a la que éste se produce, siendo muy precoz el cáncer hereditario respecto al esporádico (*American Society of Clinical Oncology*, 2019; de Oncología Médica, 2019).

1.3.6.10. Hormonas y quimioprevención.

Los andrógenos influyen en el desarrollo, maduración y crecimiento de la próstata y afectan tanto a la proliferación como a la diferenciación de su epitelio. Su papel en la etiología del cáncer de próstata todavía no se ha confirmado, sin embargo, sí se ha observado una notable ausencia de PCa en hombres emasculados. Los resultados obtenidos en los estudios epidemiológicos respecto al PCa y los andrógenos no son concluyentes, ya que únicamente en una minoría de estudios se obtuvieron resultados significativos. La inhibición en la producción de testosterona es un tratamiento habitual y efectivo para reducir el tamaño del tumor prostático mediante fármacos inhibidores de 5- α -reductasa, también utilizados para reducir el riesgo a desarrollar PCa. Sin embargo, se han publicado estudios en los que se observa un incremento de la agresividad del cáncer desarrollado en hombres con tratamiento inhibitor de la testosterona (*American Society of Clinical Oncology*, 2019; Ferrís-i-Tortajada *et al.*, 2011; Hsing & Chokkalingam, 2006).

La hormona esteroidea conocida como vit. D, así como sus análogos, tienen un efecto antiproliferativo, prodiferenciador y proapoptótico en células prostáticas. Por todo ello se los considera un factor protector respecto al desarrollo de PCa. Dado que la vit. D es producida como respuesta a la exposición solar, un descenso en la misma implicaría un factor de riesgo a desarrollar PCa (Hsing & Chokkalingam, 2006).

Los IGFs (*insulin-like growth factors*) también parecen estar implicados en el PCa, ya que muchos estudios han encontrado una asociación positiva con IGF-1 e inversa con IGFBP3 (Hsing & Chokkalingam, 2006).

1.3.6.11. Infección e inflamación de la próstata.

Tal y como ya se ha tratado en apartados anteriores, ciertas patologías como la prostatitis, la HBP o inflamación crónica pueden asociarse directamente al desarrollo de PCa. Asimismo, se han encontrado muestras de tejido inflamado en pacientes con PCa. Los primeros estadios de cáncer de próstata suelen ir asociados con lesiones producidas por inflamación crónica como PIA o PIN, que son estados precursores del cáncer. En otros estudios se ha observado una reducción del riesgo a desarrollar este cáncer asociado al uso de AINES (antiinflamatorios no esteroideos), lo que apoya el vínculo entre inflamación y cáncer. Los estudios con enfermedades de transmisión sexual no han obtenido resultados concluyentes, aunque se han encontrado algunos vínculos con la sífilis, gonorrea recurrente, virus de papiloma humano y VIH. Además, se ha planteado que un elevado número de parejas sexuales puede asociarse con el incremento en el riesgo del cáncer de próstata, ya sea por mayor probabilidad de contagio de infecciones de transmisión sexual o por una relación positiva entre actividad androgénica y actividad sexual (*American Cancer Society*, 2019; de Oncología Médica, 2019; Hsing & Chokkalingam, 2006).

1.3.6.12. Variación genética.

El cáncer de próstata es una enfermedad genética ocasionada por acumulaciones de mutaciones cromosómicas, por lo que los factores genéticos relacionados con su desarrollo son el núcleo de múltiples estudios. Hay ciertas mutaciones genéticas heredadas que parecen aumentar el riesgo de cáncer de próstata, aunque se asocian únicamente a un pequeño porcentaje de casos. Un ejemplo de estas mutaciones hereditarias se da en los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *HPC1*, *HPCX* o *CAPB*. Un caso concreto de asociación entre un factor genético y el cáncer de próstata es el Síndrome de cáncer hereditario de mama y de ovario (*HBOC*), asociado con mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Aunque normalmente se asocia con mayor riesgo de cáncer de mama y ovario en mujeres, en varones se ha comprobado que se da un aumento del riesgo a desarrollar cáncer de mama y de próstata. Otro ejemplo son los varones con Síndrome de Lynch, una afección causada por cambios genéticos hereditarios, cuyo riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer se ve incrementado. Sin embargo, ninguno de estos ejemplos ha probado ser una causa específica o directa del desarrollo de PCa (*American Cancer Society*, 2019; *American Society of Clinical Oncology*, 2019).

1.4. Marcadores genético moleculares.

A lo largo de los apartados anteriores se ha esbozado un panorama que refleja el vínculo entre inflamación y cáncer de próstata, de tal modo que la presencia y actividad de moléculas como las citoquinas promoverán o inhibirán los procesos inflamatorios y, por lo tanto, podrían afectar al desarrollo del cáncer de próstata. Así, las variaciones en la expresión de estas moléculas implicarían a su vez variaciones en su actividad y en el proceso inflamatorio como precursor del PCa. Estos cambios en la expresión vendrían asociados a variaciones en los genes codificantes de dichas moléculas, como es el caso de los cambios de un único nucleótido (SNP) en la región promotora de los genes. De la misma forma, debido al daño celular que implica el proceso inflamatorio, cambios semejantes en genes implicados en las principales rutas de reparación de ADN también podrían asociarse a alteraciones en el desarrollo del cáncer de próstata.

Los marcadores o polimorfismos genético moleculares se definen como fragmentos de ADN o de una proteína cuya secuencia es variable y puede detectarse mediante técnicas moleculares. Para ser útiles deben tener un grado de variabilidad mínima, con al menos dos alelos y con frecuencias relativamente elevadas en humanos (Benito-Jiménez & Espino-Nuño, 2012; Solari, 2011). De hecho, en general solo se consideran polimórficos los *loci* que presentan al menos dos alelos con una frecuencia mayor o igual a 0,1.

Existen diferentes clasificaciones de los marcadores genético moleculares pero la más utilizada es la siguiente:

1. Marcadores genético moleculares clásicos.
 - a. Grupos sanguíneos.
 - b. Proteínas plasmáticas.
 - c. Proteínas eritrocitarias y leucocitarias.
2. Marcadores de ADN.
 - a. SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*).
 - b. CNV (*Copy Number Variation*).
 - i. STR (*Short Tandem Repeat*).
 - ii. VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*).
 - c. TE (*Transposable Elements*).

En la presente tesis doctoral se han analizado una serie de marcadores de ADN, definidos como *loci* genéticos cuya posición es conocida, es decir, se sabe a qué cromosoma corresponden y en qué región de este se hallan. Estos marcadores pueden estar localizados en regiones génicas, aunque aparecen más frecuentemente en secuencias no génicas. Por lo tanto, los marcadores moleculares de ADN son secuencias únicas y específicas del ADN, la mayoría no codificantes, sin función conocida y variables en la población humana (Solari, 2011). En nuestro caso concreto los marcadores de ADN utilizados son SNPs de tipo sustitución, excepto en el caso de un indel.

Un SNP es un polimorfismo que afecta a un único nucleótido del genoma. Pueden ser polimorfismos de sustitución o indels (inserciones/deleciones) que afectan a uno o unos pocos nucleótidos. En la actualidad se estima que existen en el genoma humano más de 10 millones de este tipo de marcadores (Guttmacher & Collins, 2002; Sanz-Ortiz, 2006; Solari, 2011).

Todos los marcadores analizados en este trabajo son polimórficos y bialélicos, esto es, presentan dos alelos, cada uno de ellos con una frecuencia polimórfica. Se considera, en general y de forma arbitraria, frecuencia polimórfica como aquella que es igual o superior al 1%.

1.4.1. CITOQUINAS

Son, por definición, moléculas con la capacidad de movilizar células, entendiendo por movilización una estimulación del crecimiento y la diferenciación celular (Lozano-Teruel, 1995). Las proteínas de esta familia contienen cerca de 160 aminoácidos y controlan diversos aspectos del crecimiento y diferenciación de tipos celulares específicos, desde la proliferación de células del sistema inmune hasta la formación de anticuerpos funcionales (Lodish *et al.*, 2016). Son sintetizadas como respuesta a la presencia de microorganismos y de otros antígenos, siendo las moléculas clave de la señalización en la respuesta inflamatoria e inmune. En la fase de activación de las respuestas inmunitarias adaptativas las citoquinas estimulan el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos, mientras que, en las fases efectoras de la inmunidad innata y adaptativa, actúan sobre diferentes células efectoras para eliminar microorganismos y antígenos. Además, también estimulan el desarrollo de células hematopoyéticas. El papel principal de las citoquinas es, por tanto, minimizar el daño celular y promover la reparación de tejidos. Sin embargo, su producción persiste en las enfermedades inflamatorias crónicas, que se asocian con el desarrollo de tumores (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007; Vendramini-Costa & Carvalho, 2012).

Las citoquinas se unen a receptores específicos en la superficie de células diana, de forma que se genera una señal interna que alterará la actividad de dicha célula. Como respuesta a la actividad de una citoquina, la célula receptora de la señal puede prepararse para la división, diferenciación o secreción de citoquinas propias. Un ejemplo de este comportamiento son las interacciones de los linfocitos T, mediadas por citoquinas que actúan como mensajeros químicos (Karp, Patton, Blengio-Pinto, & Pérez Tamayo Ruiz, 2014). La respuesta de una célula a la citoquina depende de si expresa o no el receptor correspondiente, denominado cognado. Todos los receptores de citoquinas activan vías de señalización intracelular similares. Así, la respuesta de las distintas células dependerá de un conjunto de factores de transcripción de la propia célula, de estructuras de la cromatina y de otras proteínas implicadas en el desarrollo de la célula (Lodish *et al.*, 2016) (Fig. 13).

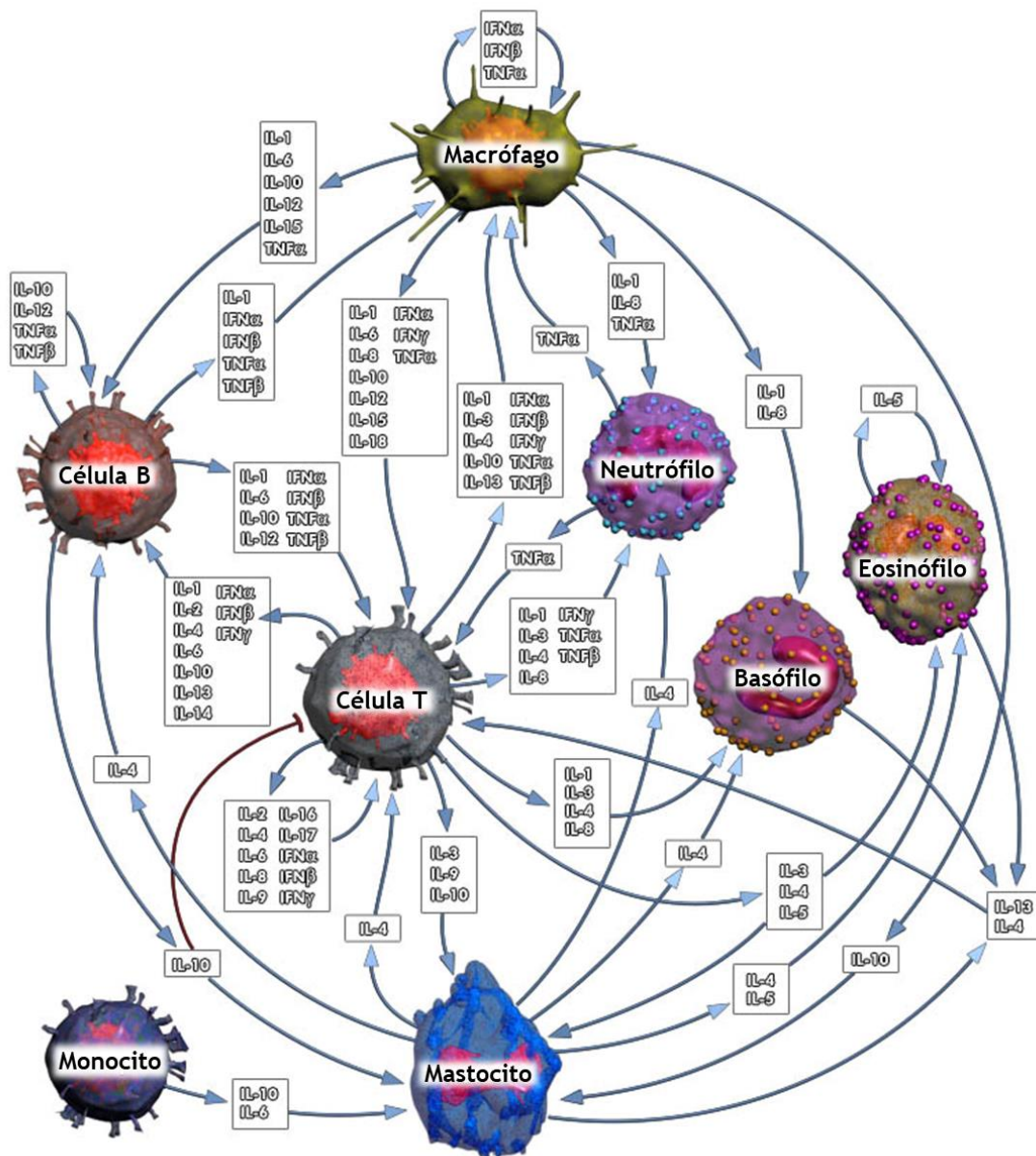


Figura 13. Red de interacciones de las citoquinas. Fuente “QIAGEN - GeneGlobe Pathways - Cytokine Network,” n.d.

Además de su función, las citoquinas comparten una estructura terciaria similar, consistente en cuatro hélices alfa plegadas en una orientación específica. De la misma forma, la estructura de los receptores para citoquinas es muy similar, con dominios extracelulares formados por dos subdominios, cada uno con siete hebras β plegadas juntas de un modo característico. Esta homología prueba el origen común de la familia de citoquinas (Lodish *et al.*, 2016).

Hay una serie de propiedades comunes a todas las citoquinas (Abbas *et al.*, 2007): su secreción es breve y está autolimitada; su actividad es pleiotrópica y redundante; influyen en la síntesis y las acciones de otras citoquinas; pueden actuar de forma autocrina y paracrina y su actividad empieza con la unión a receptores específicos de membrana en las células diana.

Se han establecido tres categorías funcionales dentro del grupo de las citoquinas:

- 1- Mediadores y reguladores de la inmunidad innata, producidos en fagocitos mononucleares.
- 2- Mediadores y reguladores de la inmunidad adaptativa, sintetizados en linfocitos T.
- 3- Estimuladores de la hematopoyesis, producidos en células del estroma de la médula ósea, leucocitos y otras células.

La clasificación de las citoquinas se basa en una subdivisión en familias, entre las que se encuentran las interleuquinas (IL), quimioquinas, interferones, factores de estimulación colonial, factores de crecimiento, factores de necrosis tumoral y factores de crecimiento tumoral (TGF). A su vez, se clasifican por su efecto pro y antiinflamatorio (Vendramini-Costa & Carvalho, 2012).

Las interleuquinas tienen gran importancia por su papel central en la respuesta inmunitaria. Son moléculas ubicuas, sintetizadas por muchos tipos de células, no únicamente linfocitos, y por ello pueden encontrarse en prácticamente todos los tejidos. Se trata de sustancias extraordinariamente pleiotrópicas, es decir, presentan gran variedad de funciones, participando en procesos tan distintos como el control de la temperatura corporal, la pigmentación epidérmica, la actividad de los condrocitos y el depósito de calcio en el hueso. La variedad de funciones de las interleuquinas no es exclusiva de éstas, sino que es común a otros tipos de mensajeros químicos, como hormonas y neurotransmisores. El tipo de respuesta a una determinada señal depende tanto del propio mensajero como del tipo y capacidad metabólica de la célula diana (Lozano-Teruel, 1995).

1.4.1.1. Familia IL-1.

Esta familia de citoquinas consta de once ligandos, que actúan induciendo la inflamación local y sistémica. Además, regulan la inflamación descontrolada y las respuestas inmunes. La mayoría de sus componentes no ejercen su función de forma directa sobre las células del sistema inmune, considerándose las citoquinas de efecto indirecto (Dinarello, 2009). Los miembros que componen esta familia son:

- IL-1 α (IL-1F1): Es una citoquina agonista, es decir, se une a un receptor dando lugar a una acción determinada en la célula. Las dos formas posibles, precursora y madura, son biológicamente activas. Puede actuar de forma específica a través de un ligando o de manera intracelular como factor nuclear de unión al ADN.

- IL-1 β (IL-1F2): Funciona como interleuquina agonista, tiene únicamente una forma biológicamente activa. Es, junto con la IL-1 α , uno de los componentes más estudiados en relación al desarrollo de múltiples enfermedades.

- IL-1Ra (IL-1F3): Antagonista del receptor de IL-1, es un inhibidor específico de la actividad de IL-1 α e IL-1 β .

- IL-18 (factor inductor de IFN- γ , IL-1F4): Se une a un receptor semejante al IL-1R para llevar a cabo sus funciones celulares. Es una citoquina proinflamatoria producida, entre otras células, por macrófagos.

- IL-1 δ (IL-1F5): Su actividad es antiinflamatoria. Funciona, junto con la IL-1F7, como inhibidor inespecífico de la inflamación y de la respuesta inmune innata.

- IL-1 ϵ (IL-1F6): Es una interleuquina proinflamatoria que actúa como ligando para el receptor IL-1R α , con el que forma un heterodímero.

- IL-1 ζ (IL-1H4, IL-1F7): Actúa como inhibidor inespecífico de la inflamación y de la respuesta inmune innata. También se encuentra en el núcleo pudiendo actuar como un factor nuclear.

- IL-1H2 (IL-1F8): Comparte receptor con la IL-1F6 (IL-1R α). Se expresa en fibroblastos sinoviales y en condrocitos articulares. Su efecto es, en principio, proinflamatorio.

- IL-1 ϵ (IL-1F9): Expresada constitutivamente en la placenta y en el epitelio escamoso del esófago con función proinflamatoria. También se une al IL-1R α .

- IL-1H γ 2 (IL-1F10): Es una citoquina expresada en la piel, el bazo, y las amígdalas. Su función no está clara, aunque se supone que es semejante a la del IL-1Ra debido a sus semejanzas estructurales.

- IL-33 (IL-1F11): Participa en las funciones del mastocito y dirige las respuestas alérgicas y de los linfocitos Th2. Puede actuar a través de su receptor específico ST2 (también llamado *Interleukin 1 receptor-like 1*, IL-1RL1), pero también actúa como factor nuclear de unión al ADN.

Este grupo de ligandos se unen a una serie de receptores agrupados en la familia IL-1 de receptores, entre los que se incluyen IL-1R1 e IL-1R2. Todos los receptores de las interleuquinas de la familia IL-1 muestran una arquitectura similar, que comprende tres dominios *Ig-like* en su ectodominio y un dominio Toll/IL-1R (TIR) intracelular común a los TLR (*Toll like receptor*). Estos receptores incluyen activadores y supresores del proceso inflamatorio. El control ejercido sobre la inflamación se produce, por lo tanto, a nivel nuclear y a nivel de receptores. Así, tanto receptores como ligandos han evolucionado hacia funciones de defensa mediante respuestas inmunes innatas y de reducción o supresión de la inflamación tanto específica, pudiendo llegar a ser altamente específica, como inespecíficamente mediante ligandos TLR y otras citoquinas (Dinarello, 2009; Krumm, Xiang, & Deng, 2014).

Exceptuando las IL-18 e IL-33, los genes de todos los miembros de la familia IL-1 se localizan en el cromosoma 2. Algunos de ellos representan duplicaciones génicas en cuanto a la organización intrón-exón (Dinarello, 2009).

1.4.1.1.1. Interleuquina 1.

Es producida esencialmente, pero no exclusivamente, por macrófagos activados. También la producen los queratinocitos de fibroblastos, astrocitos de células corneales y linfocitos B transformados (Bensi *et al.*, 1987). La IL-1 es producida por tumores, células estromales y endoteliales, y en células inmunes de la infiltración tumoral (Multhoff, Molls, & Radons, 2012).

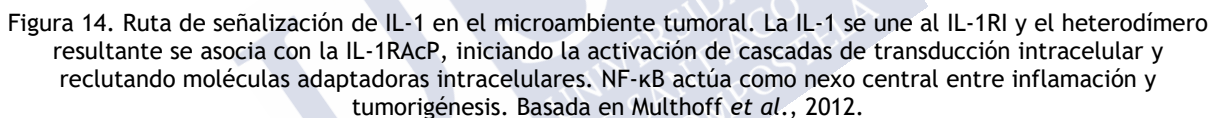
Actúa co-estimulando las funciones propias de las células T, además de poder actuar como factor de crecimiento de timocitos. Sin embargo, es improbable que tenga un papel esencial en el crecimiento del timo. En modelos animales se ha observado que la IL-1 contribuye a la polarización de las células Th2 (Dinarello, 2009). Generalizando, la IL-1 muestra numerosos efectos de intensificación sobre las funciones fisiológicas de células innatas e inmunocompetentes (Multhoff *et al.*, 2012).

Se han identificado elevados niveles de IL-1 en muchos tumores humanos y dichos niveles suelen asociarse a un peor pronóstico. Favorece el crecimiento tumoral y la metástasis de forma autocrina y paracrina y sus funciones dependerán de su localización celular. La IL-1 puede estimular a otros tipos celulares para producir mediadores pro-angiogénicos y pro-metastásicos con lo que juega un importante papel en la carcinogénesis asociada a la inflamación (Multhoff *et al.*, 2012).

La IL-1 comprende dos ligandos bioactivos proinflamatorios, IL-1 α e IL-1 β , descubiertos en 1985, y un antagonista específico de receptor, IL-1Ra. Las dos interleuquinas α y β presentan relativa semejanza estructural y elevado parecido funcional, por lo que se las considera dos isoformas de una misma interleuquina, la IL-1, con un antecesor común. Ambas se han caracterizado como citoquinas de alarma ya que pueden provocar la inflamación e inducir la expresión de otros genes proinflamatorios. Estos ligandos se unen a dos tipos de receptores IL-1 transmembrana, IL-1R1 e IL-1R2 (Bensi *et al.*, 1987; Dinarello, 2009; Roerink, van der Schaaf, Dinarello, Knoop, & van der Meer, 2017; Torrealba *et al.*, 2017; Xu, Ding, & Jiang, 2014).

Tal y como se muestra en la figura 14, la señal de transducción se inicia cuando una de las IL-1 (ya sea α o β) se une al receptor IL-1R1. Entonces sufre un cambio conformacional que permite el reconocimiento por parte de la proteína accesoria del receptor 1, IL-1RAcP. La formación del heterodímero del complejo de receptor y ligando conduce al reclutamiento de la proteína MyD88 (*dimeric myeloid differentiation protein 88*) a través de su dominio TIR (*toll interleukin receptor*) seguido por la formación del complejo entre IRAK-4 (*interleukin-1 receptor-associated kinase 4*), MyD88 e IL-1RAcP y la consiguiente fosforilación de IRAK-4. Se produce el reclutamiento de IRAK1/Tollip (*toll interacting protein*) al complejo, después de lo cual se fosforila la IRAK-1 hasta terminar hiperfosforilada y disociada en el citoplasma. Una vez allí se une a TRAF-6 (*TNF receptor-associated factor 6*). La IRAK-1 interactúa con la proteína de membrana TAB-2 (*membrane-bound TAK-binding protein 2*) así como con el complejo TAK-1/TAB-1, a lo que le sigue la traslocación de TAB-2 desde la membrana plasmática al cuerpo de señalización (signalosoma) y posteriormente la activación parcial de TAK-1 (también llamada MAP3K7, *mitogen-activated protein 3-kinase 7*) por TAB-2. IRAK-1 permite la dimerización de TRAF-6 con su consiguiente ubiquitinación y activación. Próxima a la TAB-2, la TAK-1 se activa parcialmente, seguido por la activación completa de TRAF-6 mediante su poliubiquitinación a través de IRAK-2, permitiendo así la activación de numerosas cascadas de señalización. Por una parte, la TAK-1 activa miembros de la familia de las MAP

quinasas, produciendo la activación de AP-1 (*activator protein 1*) y ATF (*activating transcription factor*), con un aumento adicional de la transcripción mediado por NF- κ B vía transactivación. Por otra parte, TAK-1 fosforila y activa IKK resultando en la fosforilación e inactivación de I κ B α . Después, I κ B α se disocia del complejo con NF- κ B y se somete a degradación proteosomal. A continuación, el NF- κ B se transloca al núcleo y activa la transcripción dependiente del mismo. En estas rutas de señalización también están implicados inhibidores de la activación de NF- κ B, que pueden suprimir la red de rutas inflamatorias en el desarrollo del cáncer, lo que indica el importante papel que juega este factor en la tumorigénesis. La señalización de IL-1 también relaciona el reclutamiento de PI3-quinasa al complejo del receptor IL-1 mediante la subunidad regulatoria p83 de PI3K y la consiguiente activación de AKT/PKB llevando a la activación de AP-1 y NF- κ B dependiente de IKK. La unión del receptor también puede activar numerosas proteínas G, lo que lleva a la activación de AP-1 y ATF mediado por muchas MAP quinasas y una transactivación de NF- κ B independiente de I κ B α . La señalización de IL-1 finalmente regula la expresión genética de gran variedad de factores tumorigénicos que incluyen factores proangiogénicos (IL-8, VEGF), de crecimiento (IL-6, GM-CSF), antiapoptóticos (Bcl-x, c-FLIP), promotores de invasión (MMP-2, MMP-7, MMP-9, UPA), enzimas inflamatorias (PGHS-2, LOX), prostaglandinas, iNOS, quimioquinas (CCL2, CCL20, IL-8) y citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-23, TNF, TGF- β , EGF, RANKL). Por lo tanto, este conjunto de reacciones lleva al reclutamiento y activación de macrófagos y neutrófilos, a la dilatación vascular y fiebre y a una potente respuesta inmune proinflamatoria. En cambio, cuando la IL-1Ra, la citoquina antiinflamatoria, se une a los mismos receptores no se producirá señal de transducción y se bloqueará la actividad de la IL-1 (Multhoff *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2014).



El diagrama ilustra la vía de señalización de NF-κB en células tumorales. Los componentes y sus interacciones son:

- Factores de entrada (verde claro):** TNF, IL-1, IL-6.
- Receptor (verde claro):** RANKL.
- Proteína clave (rojo):** NF-κB.
- Proteína reguladora (rojo):** HIF-1α.
- Proteína reguladora (rojo):** STAT-3.
- Proteína reguladora (verde claro):** PGHS-2.
- Proteína reguladora (verde claro):** NF-κB (inferior).
- Efectos (grises):**
 - Migración celular:** Inducida por RANKL.
 - Quimiorresistencia:** Bcl-X₁, c-FLIP, IAP-1, IAP-2cv (inducida por NF-κB superior).
 - Proliferación, angiogénesis, supervivencia:** Bcl-2, MMP, VEGF, EGFR (inducida por NF-κB superior y PGHS-2).
 - Proliferación:** Ciclina D1, 5-LOX, c-Myc (inducida por STAT-3).
 - Quimiorresistencia:** Bcl-X₁, ciclina D1, survivina (inducida por NF-κB inferior).
 - Angiogénesis, invasión, supervivencia, crecimiento:** VEGF, MMP-2, HSP (inducida por HIF-1α).
 - Invasión, metástasis:** Quimioquinas, MMP-9, ICAM-1 (inducida por NF-κB superior y IL-6).

37

Las funciones de IL-1 α e IL-1 β dependen de la forma en la que se presenten en las células, siendo la mayor parte de la IL-1 β intracelular y únicamente secretada en pequeñas cantidades, mientras que la IL-1 α suele unirse a la membrana plasmática y su secreción es incluso menor que la de IL-1 β . Como ya se ha dicho, la IL-1R α puede atenuar las señales producidas por IL-1 α e IL-1 β . Tras la activación de NF- κ B por ambas citoquinas, éste puede promover la supervivencia de las células tumorales de PCa a través de señales antiapoptóticas (Xu *et al.*, 2014).

A. Interleuquina 1 alfa (IL-1 α).

Estructura molecular y función.

La IL-1 α se identificó originalmente como un factor derivado de macrófagos y activador de linfocitos, sin embargo, en la actualidad se sabe que la secretan varios tipos de células entre las que se incluyen monocitos, neutrófilos, células del músculo liso y epitelio cervical. Su forma precursora, denominada pro-IL-1 α , tiene un peso de 31 kDa, mientras que la forma madura es de aproximadamente 17 kDa y ambas son formas biológicamente activas como ligandos del receptor IL-1R. La citoquina ejerce sus funciones biológicas tanto en estado libre, cuando es secretada, como una vez que se ha unido a la membrana (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016; Hashemi *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2016).

La IL-1 α está presente en gran variedad de células y es expresada en células hematopoyéticas y no-hematopoyéticas de forma similar, siempre en respuesta a estímulos determinados, como el estrés oxidativo, sobrecarga de lípidos, estimulación hormonal, exposición a citoquinas (incluidas las propias IL-1 α e IL-1 β) y mediadores proinflamatorios de origen microbiano. En tejidos sanos la IL-1 α se expresa en distintos tipos celulares, como las células epiteliales y endoteliales, pero dicha expresión podrá aumentar en respuesta a ciertos factores de crecimiento y a estímulos proinflamatorios y asociados al estrés. La expresión inducida de IL-1 α depende de la existencia de los sitios de unión para AP1 y NF- κ B así como del tipo celular en que se encuentre (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016).

En respuesta a ciertos estímulos la IL-1 α puede translocarse al núcleo, lo que es importante funcionalmente ya que puede interactuar directamente con histonas y estimula la transcripción de genes, incluyendo la de quimioquinas proinflamatorias, independientemente de la señalización del receptor. Por otra parte, la IL-1 α puede funcionar como una citoquina de unión a la membrana plasmática tras recibir estímulos proinflamatorios en células tales como fibroblastos y células endoteliales. Esta capacidad para actuar unida a la membrana plasmática es única dentro de la familia de IL-1. Existen mecanismos moleculares especializados que regulan la translocación de la pro-IL-1 α del citosol al lado externo de la membrana plasmática, permitiendo el inicio de la señalización mediada por el conjunto de la IL-1 α unida al receptor IL-1R de forma paracrina. Posteriormente la pro-IL-1 α unida a la membrana plasmática puede liberarse de dicha unión. El exceso de pro-IL-1 α intracelular está sujeto a la degradación proteosómica a través de mecanismos dependientes de ubiquitina (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016).

La pro-IL-1 α y la IL-1 α madura tienen actividades biológicas idénticas, aunque posiblemente la pro-IL-1 α cortada en distintos sitios pueda producir formas de IL-1 α madura con diferentes funciones biológicas. La pro-IL-1 α se expresa de manera constitutiva e inducida en una amplia variedad de tipos celulares. Cuando se encuentra libre en el citosol es un elemento desencadenante de la inflamación en células necróticas, de modo que la IL-1 α madura actúa como alarma celular, alertando al organismo del daño. Cuando la pro-IL-1 α citosólica se une al inhibidor IL-1R2 puede prevenir o reducir la magnitud de la respuesta inflamatoria a células necróticas mediante el secuestro del precursor en complejos citosólicos. La pro-IL-1 α citosólica es entonces trasladada al núcleo, lo que evita su liberación y, por lo tanto, la inflamación (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016).

La pro-IL-1 α , para actuar como alarma extracelular, debe perder su integridad de membrana, ser liberada de forma pasiva y así activar la cascada inflamatoria. Sin embargo, esta molécula carece de péptido de señalización que medie su secreción desde la célula, por lo que la caspasa-1 y el inflamasoma podrían ser necesarios para su procesamiento y liberación como pro-IL-1 α proteolítica. La caspasa-1, conocida también como enzima de conversión de IL-1 (ICE), suprime la muerte celular y la inflamación en las células hematopoyéticas como respuesta a ciertos estímulos, liberando IL-1 α independientemente del inflamasoma, de manera que se lleva a cabo una ruta alternativa para desencadenar mecanismos de defensa dependientes del receptor IL-1R1 y alertando al huésped de una infección. La caspasa-1 es un miembro prototípico de la familia de caspasas inflamatorias que contienen un dominio específico denominado CARD (*N-terminal caspase recruitment domain*). Es activada por un complejo de proteínas intracelulares denominado inflamasoma, un complejo multiproteico activado a partir de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs – *pathogen-associated molecular patterns*), así como a patrones asociados a daño molecular (DAMPs – *damage-associated molecular patterns*). Este complejo no es solo responsable de la activación de la caspasa-1 sino también de su reclutamiento, así como de la maduración de citoquinas inflamatorias IL-1 β e IL-18 (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016; He, Fu, Tian, & Yan, 2018; Martinon, Burns, & Tschopp, 2002; Multhoff *et al.*, 2012; Roerink *et al.*, 2017).

Se ha considerado que el proceso inflamatorio en el que está implicada la IL-1 α consiste en un ciclo inflamatorio dependiente de dicha interleuquina. Frente a estrés oxidativo, genotóxico, metabólico, estimulación hormonal o infección se inician rutas de señalización de TNF-R1, IL-1R1 o TLR. Al no producirse muerte celular estos estímulos desencadenan la activación y traslocación de pro-IL-1 α , trasladándola a la membrana plasmática y generando el complejo pro-IL-1 α -membrana. A su vez esto activa quimioquinas y produce citoquinas a partir de células vecinas o macrófagos residentes en tejidos, lo cual produce movilización de células mieloides al lugar donde se inició el estrés. La IL-1 α unida a la membrana en la superficie de células sometidas a estrés va a activar la producción de más IL-1 α , así como de IL-1 β . De esta forma, se produce un ciclo inflamatorio dependiente de la asociación de IL-1-IL-1R1, que señala la producción de quimioquinas y el reclutamiento de células inflamatorias hacia el lugar de estrés y que se mantendrá únicamente en células hematopoyéticas (Fig. 16a). En caso de muerte celular por daño, estrés o infección, la IL-1 α se moviliza a partir de la liberación pasiva de pro-IL-1 α al medio circundante, en el que la IL-1 α actúa como alarma (Fig. 16b). La pro-IL-1 α liberada a partir de células necróticas activa la señalización IL-1R1 en células vecinas, llevando al reclutamiento de células hematopoyéticas que pueden además mantener la inflamación como se observa en la figura 16a (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016).

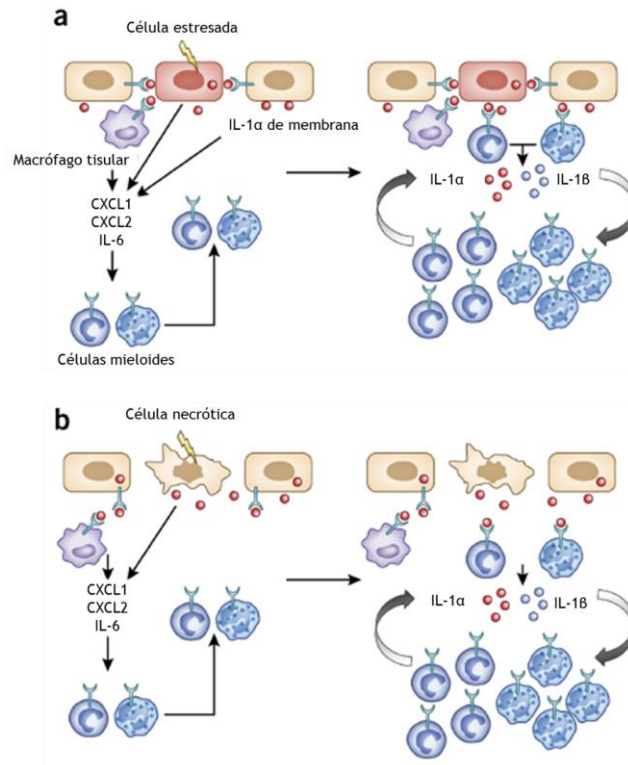


Figura 16. Ciclo inflamatorio mediado por IL-1 α . a) En células sometidas a estrés. b) En células necróticas. Fuente Di Paolo & Shayakhmetov, 2016.

Gen *IL-1A* (rs3783553).

El gen que codifica la IL-1 α se denomina *IL-1A* y está localizado en el cromosoma 2q14.1. Tiene un tamaño de 10.2 Kb e incluye 7 exones (Hashemi *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2016).

El rs3783553 es un polimorfismo del gen *IL-1A* consistente en una inserción/delección de cuatro nucleótidos (TTCA) en la región 3' no traducida (3' *untranslated region*, 3'UTR). Su localización en el cromosoma 2 lo sitúa entre las posiciones 112774138 y 112774143. En julio de 2018 el NCBI fusionó el rs3783553 con el rs16347 ya que ambos se referían al mismo polimorfismo (Fig. 17).

IL-1 α y cáncer.

La IL-1 se produce de forma descontrolada en tejidos tumorales y podría afectar al proceso de carcinogénesis, al crecimiento tumoral e invasión, así como a los patrones de interacción entre el tumor y el resto del organismo. Se ha propuesto que la IL-1 α puede jugar un papel clave en el desarrollo del cáncer, su progresión y metástasis, mediante la inducción de factores de crecimiento, tales como IL-6, IL-8, TNF- α , VEGF, de la expresión genes de metástasis como metalo-proteinasas de matriz (MMPs, *matrix metalloproteinases*) y TGF- β (*transforming growth factor β*), así como estimulando la producción de proteínas angiogénicas. Mientras que la IL-1 α asociada a la membrana y las cantidades locales bajas de IL-1 α secretada inducen respuestas inmunes antitumorales, las cantidades elevadas de la forma secretada producen daño tisular asociado a la inflamación y a la invasión tumoral (Hashemi *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2016).

Como ya se ha explicado los polimorfismos funcionales en los sitios de unión de miRNA pueden influir en la susceptibilidad de un individuo al cáncer, alterando la fuerza de la unión de miRNA y la regulación de genes diana. Por ello se han considerado los miRNAs como supresores de tumores que regulan negativamente la proliferación de células de cáncer, la invasión apoptótica y la metástasis (Du *et al.*, 2014; Yu *et al.*, 2016).

Se ha estudiado la posible asociación entre el rs3783553 y el riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer probablemente debido a la regulación del nivel de expresión de IL-1 α vinculado al polimorfismo. Frecuentemente se ha observado sobreproducción de IL-1 α en las áreas del tumor, asociado con el desarrollo, invasión, metástasis y pronóstico del cáncer (Y. Gao *et al.*, 2009; Hashemi *et al.*, 2018).

Los resultados obtenidos en los estudios realizados en todo el mundo son homogéneos en cuanto al genotipo de riesgo. Los individuos portadores de ambos alelos de inserción (Ins/Ins) parecen mostrar protección estadísticamente significativa frente al desarrollo de cáncer. Estos análisis se realizaron en cáncer cervical, nasofaríngeo, gástrico, orofaríngeo, ovárico, endométrico y prostático. En los estudios realizados en cáncer hepático, papilar de tiroides y colorrectal no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos (Tabla I, Anexo 1).

B. Interleuquina 1 beta (IL-1 β).

Estructura molecular y función.

La IL-1 β es una citoquina proinflamatoria, sintetizada como un precursor citoplasmático biológicamente inactivo, denominado pro-IL-1 β , que debe ser procesado para generar la forma madura biológicamente activa. Dicho paso lo lleva a cabo la caspasa-1 en ciertos lisosomas o en el citoplasma, aunque, estas rutas dependientes de la caspasa-1 no son exclusivas. Existen otras rutas alternativas, aunque minoritarias, mediante las cuales, en presencia de elevado número de neutrófilos, las enzimas liberadas por estas células cortan el precursor y liberan la parte bioactiva. Estas rutas de secreción de la IL-1 β de la célula productora incluyen la exocitosis de los lisosomas, la pérdida de microvesículas de la membrana plasmática, liberación directa vía transportadores o cuerpos multivesiculares que contienen exosomas (Dinarelli, 2009; Roerink *et al.*, 2017). La actividad de la IL-1 está regulada a múltiples niveles, uno de los cuales se refiere al corte de la pro-IL-1 β inactiva regulado por la caspasa 1. Los inhibidores

de caspasa-1 provocan la reducción en la secreción de IL-1 β de modo que su precursor se acumula en el interior de la célula. Para la producción y secreción de la molécula activa es vital la activación del inflamasoma (Fig. 19) (Dinarello, 2009).

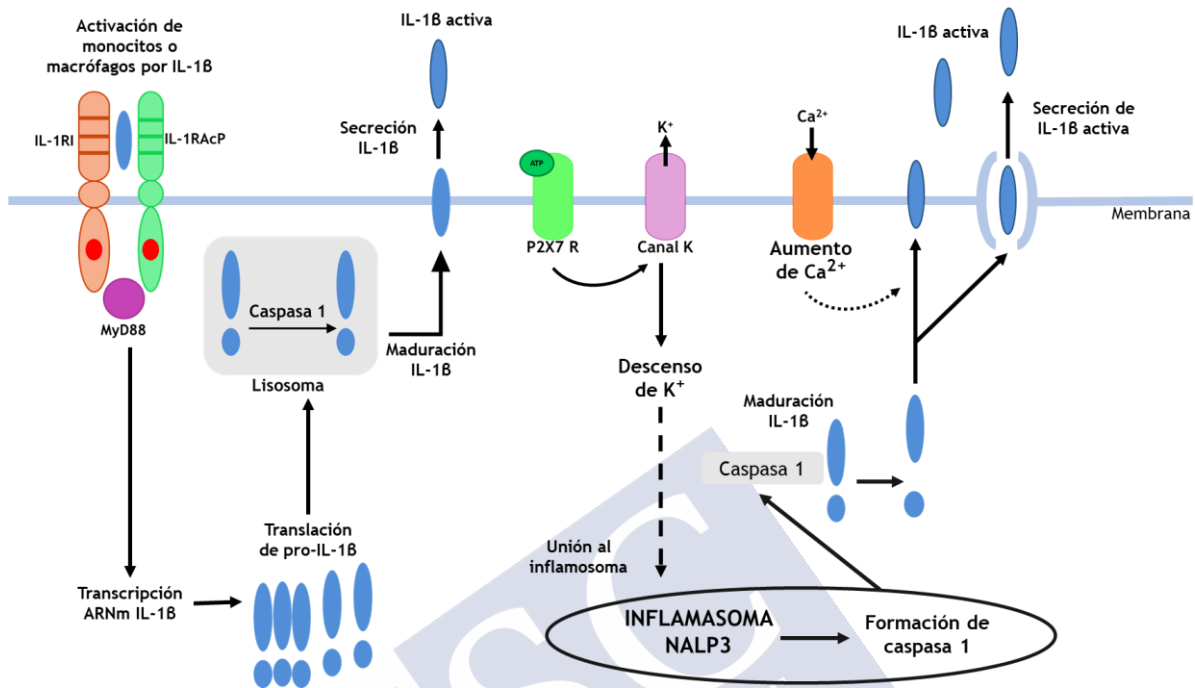


Figura 19. Síntesis y secreción de la IL-1 β inducida por la propia IL-1 β como ejemplo de la principal ruta de síntesis. Basada en Dinarello CA *et al.* (2009).

La IL-1 β es producida por distintos tipos celulares. Los principales son los macrófagos, los monocitos sanguíneos activados y las células dendríticas. También, aunque en menor medida, las células NK y los linfocitos B (Dinarello, 2009; Martinon *et al.*, 2002). Es sintetizada como respuesta a estímulos proinflamatorios actuando a través de receptores comunes a distintos tipos celulares. Estas señales inician una cascada autoamplificada de mediadores que dan lugar a respuestas inflamatorias crónicas y agudas. Son citoquinas inducibles a nivel transcripcional con promotores polimórficos que contribuyen a las diferencias interindividuales en la capacidad de respuesta inflamatoria (Roerink *et al.*, 2017; Rogus *et al.*, 2008).

En general la regulación de la actividad de las citoquinas proinflamatorias se caracteriza por un elevado grado de interactividad. De este modo la IL-1 induce la IL-17, de la misma forma que ésta estimula la producción y liberación de IL-1 β en monocitos. La IL-1 induce la producción de IL-6 en fibroblastos, timocitos y células humanas endoteliales, por lo que se ha deducido que muchos efectos de la IL-1 β están mediados por la inducción de IL-6. La IL-1 β actúa conjuntamente con la IL-6 y con el TNF- α regulando respuestas a infección e inflamación, mediadas por el sistema nervioso central y periférico. Estas citoquinas tienen diversos efectos conjuntos, ya que forman parte de una cascada de factores de inflamación y de la activación de linfocitos T y B, que contribuyen al proceso inflamatorio y están relacionados con la fisiología de varias enfermedades. Se han encontrado similitudes entre la IL-1 β y la IL-6 en cuanto a su capacidad de inducir fiebre, actuando como pirógenos, en respuesta a procesos infecciosos o inflamatorios, pero no se han encontrado secuencias homólogas entre ambas. Pese a todos estos puntos comunes, la IL-1 β también puede antagonizar la acción de IL-6 mediante la supresión de la fosforilación de STAT3 por IL-6 así como por inducción de SOCS3 (Belfer *et al.*, 2004;

Dinarello, 2009; Helle, Brakenhoff, De Groot, & Aarden, 1988; Martinon *et al.*, 2002; Pociot, Mølviq, Wogensén, Worsaae, & Nerup, 1992; Roerink *et al.*, 2017).

Además, la IL-1 β ejerce funciones indirectas sobre la respuesta inmune, por ejemplo, mediante su capacidad para inducir la expresión genética y la síntesis de COX-2 (ciclooxigenasa tipo 2), fosfolipasa A tipo 2 e iNOS (sintasa óxido nítrico inducible) (Dinarello, 2009).

Otra propiedad proinflamatoria importante de esta citoquina es su capacidad para incrementar la expresión de moléculas de adhesión, que favorece la infiltración de células inflamatorias e inmunocompetentes desde el sistema circulatorio al espacio extravascular y de allí a los tejidos, donde se produce la remodelación tisular como resultado final de la inflamación crónica inducida por IL-1. Además, la IL-1 β es también un factor angiogénico con un papel importante en el desarrollo de la metástasis y la formación de vasos sanguíneos (Dinarello, 2009).

Ya en la década de los 90 se conocía la participación de la IL-1 β en enfermedades como la diabetes mellitus insulino-dependiente, artritis, patologías del tiroides, así como en el shock séptico (Pociot *et al.*, 1992). La presencia de bajas concentraciones de IL-1 β secretada regulan negativamente las respuestas inflamatorias y los mecanismos inmunes, mientras que las concentraciones elevadas producen inflamación asociada al tejido dañado y la invasión tumoral. La concentración de IL-1 β en circulación suele mostrarse elevada únicamente en casos de enfermedad severa (Multhoff *et al.*, 2012; Roerink *et al.*, 2017). Por otra parte, muchos tumores malignos expresan IL-1 β como parte de su naturaleza neoplásica, de forma que muestran elevados niveles de expresión de IL-1 β constitutiva (Dinarello, 2009).

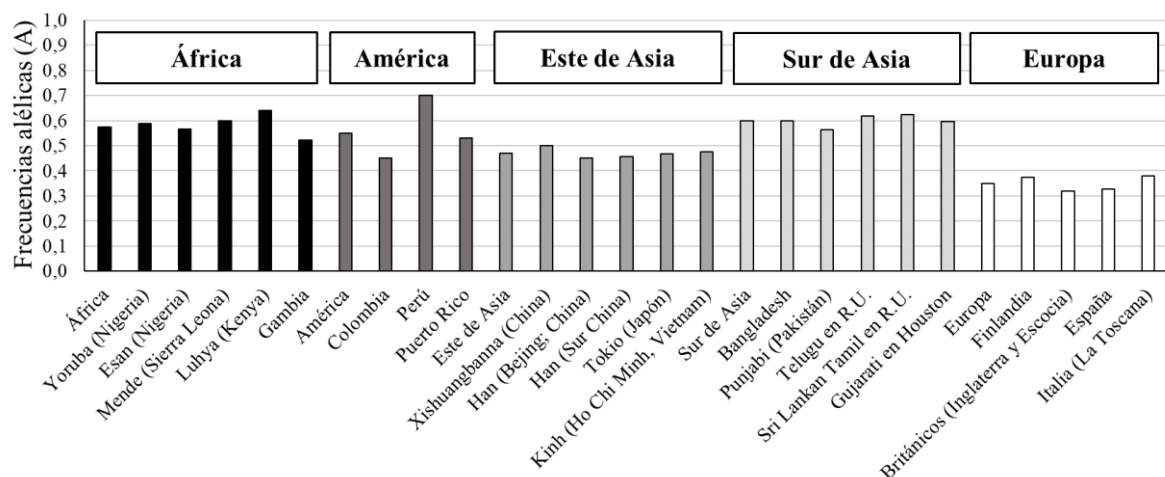
Gen *IL-1B* (rs16944).

En el brazo largo del cromosoma 2, entre las bandas 14 y 24 (2q14-24) se encuentran tres genes relacionados denominados *IL-1A*, *IL-1B* e *IL-1RN*. El gen *IL-1B* tiene siete exones y su longitud es de 7 Kb. La región cromosómica en la que se encuentra este gen se caracteriza por la presencia de desequilibrio de ligamiento, de tal modo que se han determinado una serie de haplotipos ampliamente estudiados (Belfer *et al.*, 2004; Rogus *et al.*, 2008). Cuando se realizan comparaciones entre modelos animales (ratones) y humanos se observa la conservación evolutiva de dominios intrónicos y exónicos, por lo que se supone la existencia de un gen ancestral para las isoformas de la IL-1 (Bensi *et al.*, 1987).

Las regiones reguladoras de *IL-1B* se distribuyen a lo largo de muchos miles de pares de bases anteriores al sitio de inicio de transcripción (Dinarello, 2009). El gen presenta cuatro SNPs con implicaciones funcionales en la región promotora potenciadora (*enhancer-promoter*) y un SNP sinónimo exónico. La región promotora-potenciadora de un gen regula su expresión mediante múltiples factores de transcripción unidos a secuencias de ADN específicas. Existen complejos de factores de transcripción ligados que pueden influir en la unión de factores adicionales y tienen la capacidad de iniciar o regular la activación de la transcripción (Rogus *et al.*, 2008).

Localización 112837272 - 112837309
Ensembl GRCh38.p12

Las frecuencias alélicas del rs16944 observadas en las poblaciones de los distintos continentes tienen un rango considerablemente amplio (0,32-0,70 para el alelo ancestral, A), siendo en el grupo poblacional del sur de Asia más homogéneas, con una frecuencia media de 0,60 para el alelo A, mientras que en América aparecen las mayores variaciones (0,45-0,70) (Fig. 23). En Europa las frecuencias son más bajas para este alelo (0,350), especialmente en Gran Bretaña (0,319) y en la población española (0,327) (Fig. 21).



45

IL-1 β y cáncer.

Múltiples estudios relacionan la familia de IL-1 con el desarrollo del cáncer, así como su pronóstico y respuesta al tratamiento. Se ha observado una distribución homogénea en relación al efecto de la familia de IL-1 y las patologías prostáticas. Además, mediante el desarrollo de estudios epidemiológicos se ha demostrado que variantes genéticas del gen *IL-1B* podrían actuar como marcadores predictivos y estar vinculados a diferentes tipos de cáncer, entre los que se encuentran colon, pulmón, gástrico y prostático (Roerink *et al.*, 2017; Torrealba *et al.*, 2017).

Se han encontrado niveles incrementados de expresión de IL-1 β y CXCL6 en pacientes con peor pronóstico de cáncer de próstata (mayor estadio Gleason), con lo que parece existir una relación entre los tres factores. La IL-1 β derivada de células del cáncer incrementa la expresión de la enzima COX-2 en las MSCs (*mesenchymal stem cells*) del estroma del tumor, lo que conlleva más secreción de prostaglandina E₂ (PGE₂). Otro vínculo entre el nivel de expresión de IL-1 β y el PCa es la correlación inversa encontrada entre el antígeno prostático y la intensidad de la señal de IL-1 β . Esto se debe a que la citoquina inhibe la expresión del PSA, así como del AR en las células tumorales del PCa. También se cree que la concentración de la IL-1 β puede estar modulada por la testosterona, lo que añade otro posible vínculo con este cáncer (Q. He *et al.*, 2018; Q. Liu *et al.*, 2013; Roerink *et al.*, 2017).

La IL-1 β parece ejercer un importante efecto sobre la progresión de metástasis ósea de PCa primario, especialmente en pacientes con terapia de deprivación androgénica (ADT). Esta citoquina proinflamatoria colabora en la supervivencia y proliferación de las células metastásicas presentes en el esqueleto. La ADT induce transdiferenciación, es decir, transformación de una célula en otro tipo celular, lo cual se combina con la expresión elevada de IL-1 β y apoya la tendencia de las células del cáncer de próstata a colonizar el esqueleto y progresar, eventualmente, a lesiones secundarias óseas (Q. Liu *et al.*, 2013).

Se han llevado a cabo varios estudios que analizan el efecto de la expresión de IL-1 β dependiente de sus variantes genéticas sobre la presencia de la fatiga durante y después del tratamiento en el cáncer. Lo observado en cáncer de próstata es que a medida que aumenta la concentración de la citoquina también se incrementa la fatiga (Roerink *et al.*, 2017).

En cuanto a los estudios realizados en el rs16944 del gen *IL-1B* en relación al desarrollo de cáncer los resultados no son concluyentes. Se han llevado a cabo en cáncer de ovario, cervical, de pulmón, leucemia, piel, esofágico y en mayor proporción en cáncer gástrico, de mama y próstata. Muchos de los resultados obtenidos no muestran asociación entre el desarrollo del tumor y la variante genética, sin embargo, en otros casos sí se han observado resultados de riesgo estadísticamente significativos vinculados generalmente al alelo A. No parece haber diferencias en cuanto a los estudios realizados en caucasoides, asiáticos y otros grupos poblacionales (Tabla II, Anexo 1).

1.4.1.1.2. Interleuquina 18 (IL-18).

Estructura molecular y función.

La interleuquina 18 (IL-18), originalmente conocida como Factor Inductor de Interferón- γ (IGIF), fue purificada a partir de hígado de ratones y clonada por primera vez en 1995 (Okamura *et al.*, 1995). Se sintetiza como una proteína precursora de 24 kDa (pro IL-18) y se activa al ser procesada por una enzima convertidora de IL-1 β (ICE o caspasa 1) obteniéndose un péptido de cadena sencilla de 193 aminoácidos, con un tamaño molecular de 18 kDa (Nakanishi, Yoshimoto, Tsutsui, & Okamura, 2001).

Esta citoquina está estrechamente relacionada con la IL-1 β , ya que sus precursores requieren la misma enzima para su maduración, ambas están relacionadas en su estructura molecular, pertenecen a la misma familia y comparten una ruta de señal de transducción. El complejo receptor heterodimérico que lleva a cabo la actividad de IL-18 se denomina IL-18R y presenta una estructura similar a la del IL-1R (Dinarello, 1999b, 1999a; Nakanishi *et al.*, 2001).

La IL-18 es producida por macrófagos activos, especialmente las células de Kupffer, células mononucleares periféricas de la sangre (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) y células dendríticas y epidérmicas, especialmente queratinocitos. En individuos metastásicos se ha observado producción de IL-18 en osteoclastos. Por otra parte, esta citoquina también se sintetiza en nervios centrales y en el sistema endocrino, por lo que se cree que puede ser un nexo entre ambos sistemas. En cuanto a la próstata, la IL-18 es producida por células epiteliales en pacientes con PCa (Dinarello, 1999a; Lebel-Binay *et al.*, 2003; Nakanishi *et al.*, 2001; Okamura *et al.*, 1995).

Respecto a la función de la IL-18 ésta es una proteína pleiotrópica y proinflamatoria (Giedraitis, He, Huang, & Hillert, 2001). Tal y como su nombre original indicaba, su principal función es inducir la producción de IFN- γ aumentando su efecto en presencia de coestimuladores y, en especial, de la IL-12, con la que tiene una relación sinérgica. La IL-18 induce la producción de IFN- γ mediante la activación del promotor del interferón por unión directa al factor de transcripción AP-1 (proteína activadora 1). Esta función no es la única que vincula a estas interleuquinas, ya que ambas actúan sinérgicamente en la proliferación de células T para la síntesis de IL-2, GM-CSF y TNF- α y en la activación de células B, que funcionan como inhibidoras de la producción de Inmunoglobulina E. Además, los receptores de ambas interleuquinas presentan regulación recíproca (Barbulescu *et al.*, 1998; Dinarello, 1999a; Okamura *et al.*, 1995; S. Park, Cheon, & Cho, 2007).

Por otro lado, la IL-18 es una molécula crítica en la activación de células T, tanto Th1 como NK, pero no Th2. Juega un papel central en la proliferación y activación de células NK, en un proceso vinculado a la actividad conjunta con la IL-12 y a la producción de IFN- γ . Además, la activación de células T y NK mediadas por IL-18 provoca la eliminación de células tumorales (Fig. 22) (Dinarello, 1999a; S. Park *et al.*, 2007; Tomura *et al.*, 1998).

La IL-18 tiene la capacidad de regular la producción y actividad de distintas citoquinas dependiendo de las dianas celulares: suprime la producción de IL-10, induce quimioquinas CC y CXC, interviene en rutas dependientes de TNF, mejora la expresión del ligando Fas (FasL) en células T y NK e induce la apoptosis en las células mielomonocíticas humanas KG-1 (*human*

myelomonocytic KG-1 cells) (Dinarello, 1999a). Además, tiene propiedades angiogénicas ya que estimula la actividad de la molécula vascular de adhesión celular-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*, VCAM-1) en fibroblastos de tejido sinovial. Incrementa la producción de SDF-1 α /CXCL12, MPC-1/CCL2 y VEGF vía superposición y, en ocasiones, mediante diferentes intermediarios de señalización. Dicha producción depende de JNK, PI3K p38 MAPK, PKC δ y NF- κ B (Amin et al., 2007; Cho et al., 2006; C. C. Park et al., 2001). Así, la IL-18 activa la ruta IRAK/TRAF6, resultando en la activación de AP-1 vía JNK y NF- κ B, aunque su efecto proliferativo sobre las células T y NK podría darse también a través de la ruta MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) (Nakanishi et al., 2001).

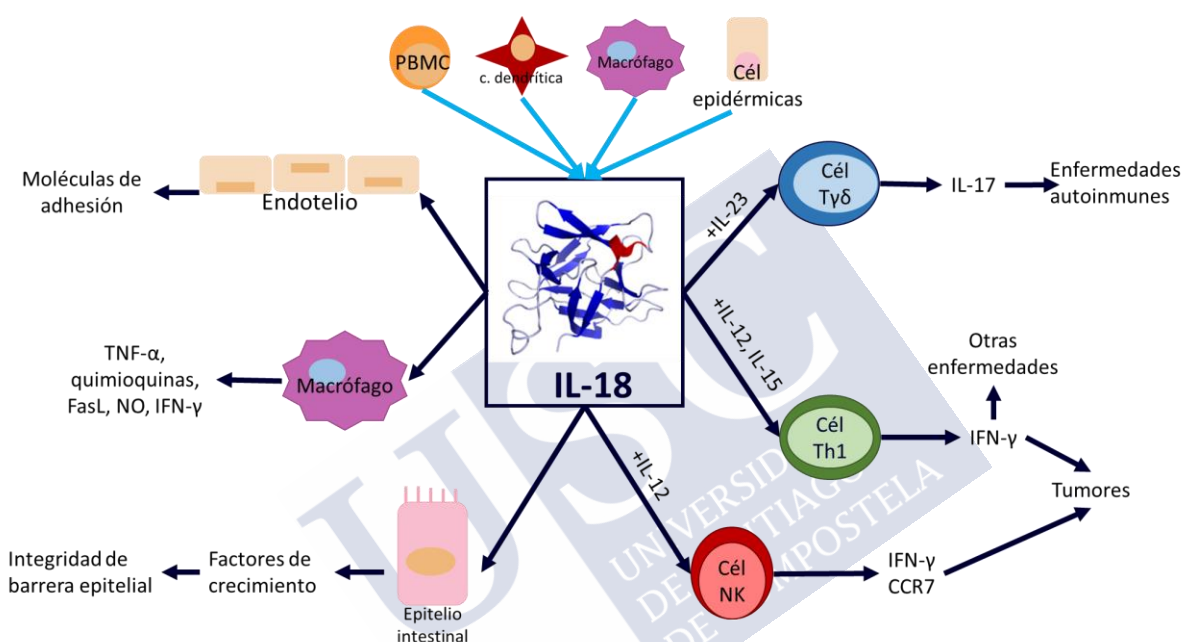


Figura 22. Funciones de la IL-18.

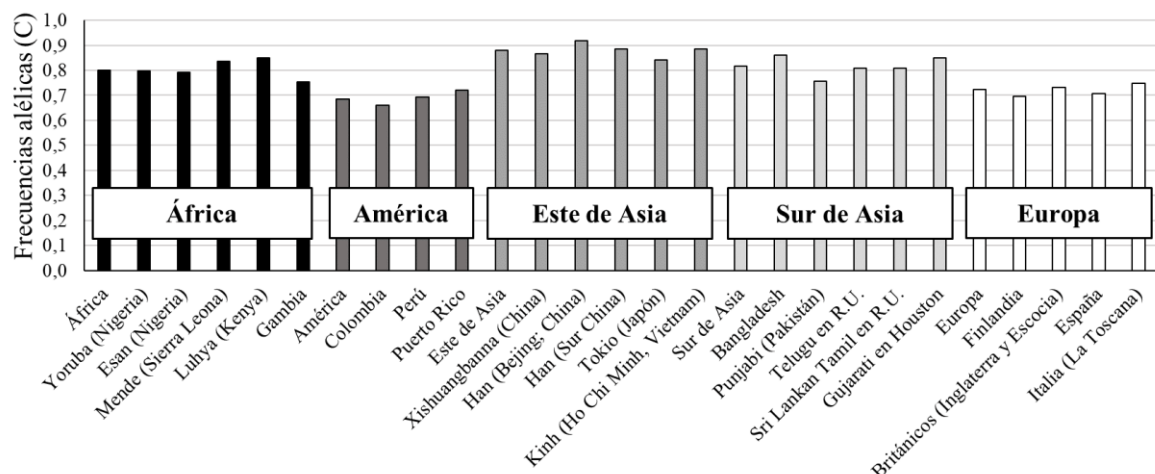
Gen *IL-18* (rs187238).

El gen *IL-18* humano se localiza en el cromosoma 11, en la posición 11q22.2-22.3 y contiene seis exones y cinco intrones (Wei et al., 2007; Y.-C. Yang et al., 2013). El análisis de la región promotora muestra una acumulación poco común de secuencias consenso de unión-STAT, lo cual explica la unión específica de STAT5 en el promotor de *IL-18* (Kalina et al., 2000). El promotor para *IL-18* carece de región TATA y su actividad promotora *upstream* del exón 2 actúa de forma constitutiva (Dinarello, 1999b).

El ARNm de *IL-18* se expresa constitutivamente en varios tipos celulares lo que se debe, al menos parcialmente, a la particular estructura y características del gen. Dicha expresión no se da únicamente en condiciones patológicas, sino también en individuos sanos (Dinarello, 1999b; Nakanishi et al., 2001).

Localización 11:112164265
Ensembl GRCh38.p7

Las frecuencias alélicas del rs187238 observadas en las poblaciones de los distintos continentes son bastante homogéneas (0,66-0,92), siendo América el continente con menores frecuencias (0,69) para el alelo ancestral C, seguida de Europa (0,72) (Fig. 24). Las frecuencias más altas aparecen en el Este de Asia (0,88), aunque son muy similares a las que aparecen tanto en el Sur de Asia (0,82) como en el continente africano (0,80). Solo en la población Han de Beijing se observan frecuencias alélicas para el alelo C por encima de 0,9 mientras que la frecuencia menor se da en Colombia (0,66). En los datos disponibles para España la frecuencia del alelo ancestral (C) alcanza valores de 0,71 (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).



49

IL-18 y cáncer.

Se ha estudiado durante años el posible vínculo entre el nivel sérico de IL-18 y el cáncer. La mayoría de las funciones de la IL-18 podrían relacionarse con efectos cancerígenos, ya que su elevada expresión se asocia con la neoformación de vasos sanguíneos, la estimulación de VEGF así como de otros factores angiogénicos como (SDF-1 α)/CXCL12, MCP-1/CCL2 o TSP-1 mediante la fosforilación de JNK-1/2, PI3K, p38MAPK, PKC y NF- κ B (Dinarelli, 1999a; Jablonska, Puzewska, Grabowska, Jablonski, & Talarek, 2005; S. Park *et al.*, 2007). También se ha encontrado asociación entre los niveles séricos de IL-18 y la producción de TNF- α y angiogenina (ANG), lo que reforzaría su efecto angiogénico (Alexandrakis *et al.*, 2004; Amin *et al.*, 2007). Además, su principal función está vinculada al IFN- γ , a través del que se favorece el proceso inflamatorio y la diferenciación de células Th1, dendríticas o NK que, en condiciones de inflamación crónica e hiperplasia, pueden favorecer el desarrollo del tumor. Sin embargo, también se han observado casos en los que la IL-18 parecía ejercer efecto anti-tumorigénico, quizá vinculado a la función apoptótica observada en ciertos tumores, como el mieloma (Osaki *et al.*, 1998; S. Park *et al.*, 2007).

Analizando los niveles séricos de IL-18 en pacientes oncológicos, se ha encontrado que los valores son más elevados en pacientes con cáncer de piel de células escamosas, en melanoma y otras líneas celulares de cáncer de piel, ovario, cervical de células escamosas, así como en tejidos tumorales de cáncer gástrico (Dehaghani *et al.*, 2009; Haghshenas *et al.*, 2009; H. Park *et al.*, 2001; S. Park *et al.*, 2007; Y.-C. Yang *et al.*, 2013; Ye, Ma, Li, Jin, & Xu, 2007). En los pacientes con cáncer de mama los niveles séricos de IL-18 elevados se asociaron a niveles también elevados de nitrato, nitrito y la citoquina RANTES (*Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted*; CCL5) (Eissa, Zaki, El-Maghraby, & Kadry, 2005; Günel *et al.*, 2002, 2003). Por otra parte, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el cáncer de vejiga y los niveles séricos de IL-18 (Bukan *et al.*, 2003). Los estudios realizados en mieloma y en leucemia mieloide aguda apoyan los efectos angiogénicos y proinflamatorios para niveles séricos de IL-18 elevados (Alexandrakis *et al.*, 2004; B. Zhang *et al.*, 2002).

En el caso de cáncer de próstata, Lebel-Binay (2003) y su equipo demostraron que las células tumorales producen IL-18 y su secreción está modulada por interferones en las líneas celulares del tumor prostático. La producción de IL-18 por el tumor se asoció con un mejor pronóstico clínico. Aproximadamente el 75% de los casos de PCa estudiados presentaban células tumorales que producían IL-18, sin embargo, la presencia de IL-18 no se asoció con el estado de Gleason o con el estado patológico del PCa. La heterogeneidad observada en los niveles de IL-18 en el tumor podría explicarse por la heterogeneidad intratumoral característica de esta patología en lo que al grado de desarrollo y daño se refiere (Lebel-Binay *et al.*, 2003).

El rs187238 se ha estudiado en relación a múltiples tipos de cáncer (Tabla III, Anexo 1) entre los que se encuentra el esofágico y oral de células escamosas, gastrointestinal, mama, ovario, vejiga, hepatocelular y nasofaríngeo, obteniéndose en todos estos trabajos resultados significativos (Haghshenas *et al.*, 2009; Jaiswal, Singh, Srivastava, & Mittal, 2013; Khalili-Azad *et al.*, 2009; Lau *et al.*, 2016; Nong, Luo, Zhang, & Nong, 2009; Singh *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2007). Por el contrario, en estudios de cáncer de pulmón, renal, cervical de células escamosas, linfoma de no-Hodgkin, tiroides, leucemia crónica y también en algunos casos de cáncer oral y nasofaríngeo no se encontró asociación significativa entre el SNP y el desarrollo de la enfermedad (Abdollahi *et al.*, 2015; Farhat *et al.*, 2008; Farjadfar *et al.*, 2009; Pratesi *et al.*, 2006; Sáenz-López *et al.*, 2010; Surovtseva *et al.*, 2014; Tsai *et al.*, 2013; Yalçın *et al.*,

2015; Y.-C. Yang *et al.*, 2013). Independientemente de la significación estadística, generalmente el alelo C se ha asociado con un aumento en el riesgo del desarrollo del cáncer, aunque esa asociación no siempre se ha observado con el mismo genotipo. En alguno de los estudios el genotipo de mayor riesgo es el CG, mientras que en otros el riesgo es mayor para el genotipo CC. Resumiendo, la relación entre el alelo C y el cáncer es significativa en cáncer de mama, vejiga, hepatocelular, esofágico y oral de células escamosas y un estudio de nasofaríngeo. Únicamente se han encontrado dos trabajos publicados que analizan la posible asociación entre el cáncer de próstata y el rs187238. En el estudio llevado a cabo por Liu Y y su equipo (2007) se concluye que los genotipos CC y CG están asociados significativamente con el riesgo a desarrollar PCa mientras que para el equipo de Liu JM (2013) el genotipo CG se asociaría con una pobre prognosis.

1.4.1.2. Interleuquina 6 (IL-6).

Se consideran varios niveles de clasificación de citoquinas: en base a sus respuestas biológicas como proinflamatorias o antiinflamatorias, en función de sus receptores o de acuerdo a su estructura en tres dimensiones, es decir, su estructura cuaternaria. Todos los miembros agrupados en la familia de IL-6 son secretados como monómeros de subunidad simple y comparten una estructura formada por cuatro hélices α . Incluye a la IL-6, IL-11, LIF (*leukaemia Inhibitory Factor*), CNTF (*Ciliary Neurotrophic Factor*), NP (*Neuropoietin*), CT-1 (*Cardiotrophin-1*), CLC (*Cardiotrophin like cytokine*), OSM (*Oncostatin M*), Epo (*Erythropoietin*), G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*), IL-12, hormona del crecimiento, prolactina, IL-10, IFN- α y β y leptina. Por otra parte, esta familia incluye sus receptores de membrana característicos entre los que se encuentran IL-6Ra, IL-11Ra y CNTFRa. Las citoquinas IL-6, IL-11, LIF, OSM, CNTF, CT.1 y CLC comparten la subunidad del receptor gp130 para la transducción de señal, de modo que sus respuestas fisiológicas son semejantes y superpuestas. Este grupo de citoquinas, denominadas “citoquinas tipo IL-6” señalizan a través de la activación de Janus quinasas (JAK) y factores de transcripción de la familia STAT, activando genes diana relacionados con la diferenciación, supervivencia, apoptosis y proliferación. Los receptores utilizados por este grupo de ligandos incluyen tanto receptores de la superficie celular como solubles (Heinrich, Behrmann, Haan, Hermanns, & Uller-Newen, 2003; Heinrich, Behrmann, Müller-Newen, Schaper, & Graeve, 1998; Jones & Vignali, 2011; Saavedra-Ramírez, Vásquez-Duque, & González-Naranjo, 2011).

Todas las citoquinas tipo IL-6 son polipéptidos con masa molecular de aproximadamente 20 kDa. Son proteínas secretoras clásicas sintetizadas que presentan péptidos de señal N-terminal y sus receptores son proteínas de membrana tipo I pertenecientes a la familia de receptores de clase I. Sus propiedades son tanto antiinflamatorias como proinflamatorias, además de participar de forma central en la hematopoyesis, así como en respuestas inmunes y de fase aguda de la inflamación (Heinrich *et al.*, 2003, 1998).

Estructura molecular y función.

La IL-6 es una citoquina polipeptídica con múltiples actividades, cuya forma biológicamente activa tiene un peso de 20,8 kDa y consta de 184 aminoácidos. Inicialmente se

la describió como un factor derivado de fibroblastos con actividad antiviral. Sin embargo, posteriormente se la vinculó con el factor estimulador de células B, así como con el factor de crecimiento de la hibridoma (*hybridoma growth factor*) y el factor estimulador de hepatocitos. Finalmente se llegó a la conclusión de que todos estos factores se correspondían básicamente con la misma molécula (Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011; Schindler *et al.*, 1990).

Es sintetizada por múltiples tipos celulares tales como linfocitos B y T, macrófagos, monocitos, fibroblastos, células endoteliales (incluidas las de la próstata) y mesoteliales, sinoviocitos, células de la glía, ciertas células tumorales y células del tejido adiposo (Azevedo, Cunha, Teixeira, & Medeiros, 2011; Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011). La IL-6 no se expresa constitutivamente, pero sí es inducible como respuesta a estímulos determinados, entre los que destacan la infección y la acción de citoquinas inflamatorias como IL-1, TNF- α y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011; Terry, Loukaci, & Green, 2000). Los niveles de IL-6 circulante son principalmente regulados a nivel de expresión debido a la rápida depuración plasmática de esta citoquina. La transcripción de la molécula está estrechamente regulada por los factores de transcripción NFIL6, NF- κ B, Fos/Jun, CRBP y receptor glucocorticoide (Terry *et al.*, 2000).

La IL-6 es una citoquina pluripotencial con la capacidad de inducir gran variedad de respuestas tanto celulares como fisiológicas, que incluyen la respuesta inmune, inflamación, hematopoyesis y oncogénesis. Estas respuestas se generan mediante la regulación del crecimiento celular, la activación genética, proliferación, supervivencia y diferenciación (Azevedo *et al.*, 2011; Heinrich *et al.*, 1998). Tiene acciones proinflamatorias y antiinflamatorias, es el principal mediador de la respuesta de fase aguda en el principio de la inflamación aguda, sus efectos en la inmunidad dependen del contexto y de su concentración local, de la presencia o ausencia de otras proteínas reguladoras y de la concentración del receptor soluble (Nguyen, Li, & Tewari, 2014; Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011). La IL-6 participa, además, en la diferenciación y activación de macrófagos, el crecimiento de células T y la diferenciación terminal de células B, en el apoyo de formación de colonias multipotenciales mediante células madre hematopoyéticas y la diferenciación neural, estimula la producción de inmunoglobulinas a través de las células B e inhibe la secreción de citoquinas proinflamatorias. En los últimos años se ha descubierto que la IL-6 promueve el desarrollo de células Th17, productoras a su vez de IL-17 (Fig. 25) (Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011; Terry *et al.*, 2000).

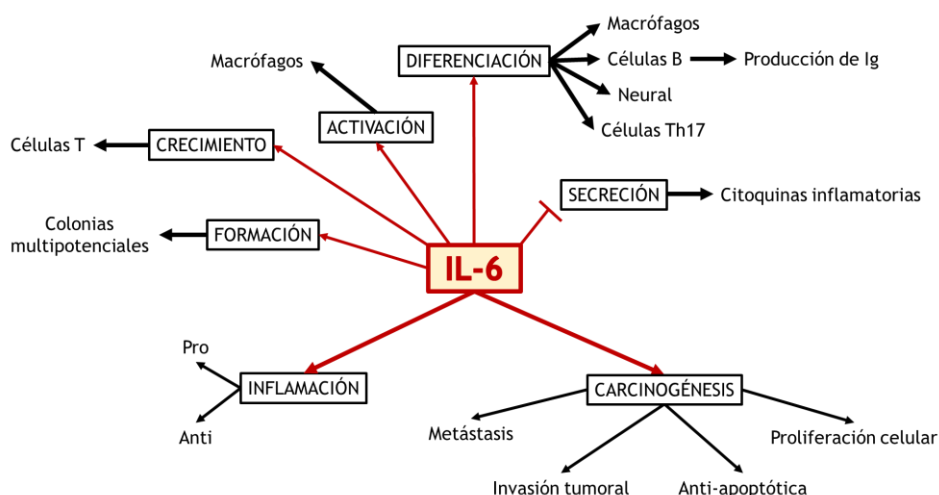


Figura 25. Esquema de las actividades de la IL-6 en el organismo.

La IL-6 participa en el proceso de carcinogénesis mediante varios mecanismos, incluyendo la estimulación de la proliferación celular, la reducción de la apoptosis, la alteración de enzimas implicadas en la invasión tumoral y la promoción de metástasis ósea. Además, en la próstata contribuye al aumento del crecimiento de las células del cáncer por activación del receptor de andrógenos. También contribuye a la transformación de células benignas de la próstata en células malignas y promueve la transición epitelio-mesénquima (Jureceková *et al.*, 2018).

Muchas de las actividades en las que participa la IL-6 son compartidas por otras citoquinas, por ejemplo, con la IL-1. Tal y como ya se ha comentado en el apartado de la IL-1 ambas actúan sinérgicamente en varias funciones como la proliferación de células T activas, el aumento de respuesta de los timocitos, la mejora de síntesis de inmunoglobulinas por las células B o la aparición de fiebre junto con TNF- α e IFN- γ . La IL-6 tiene un efecto supresor en la producción de IL-1 β y TNF, lo que podría ser especialmente importante en tipos celulares que expresan grandes cantidades de IL-6 en respuesta a IL-1, tales como fibroblastos y células endoteliales. La regulación de la producción de IL-1 y TNF- α se considera su principal efecto antiinflamatorio (Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011; Schindler *et al.*, 1990). También actúa conjuntamente con la IL-27 produciendo la secreción de IL-10 por parte de las células T (Jones & Vignali, 2011).

El hecho de que la IL-6 tenga la capacidad de inducir distintas respuestas se debe a su capacidad para activar la señalización a través de distintas rutas (Culig, Steiner, Bartsch, & Hobisch, 2005). El primer paso de activación de la señalización consiste en la unión del ligando IL-6 al receptor, formando el complejo IL-6/IL-6R/gp130. El receptor está formado por una subunidad α de 80 kDa, denominada gp80 o IL-6R, y dos componentes glucoproteicos de 130 kDa (gp130). El patrón de expresión de IL-6R está altamente definido y es muy específico de ciertos tipos celulares, además su unión con el ligando IL-6 es de baja afinidad y carece de dominio intracelular de transducción de señales. La gp130 presenta un dominio Ig amino-terminal seguido por 5 dominios de fibronectinas en tándem tipo III (FNIII), un dominio transmembrana y un dominio intracelular con 5 motivos de fosforilación de tirosina. El dominio FNIII es el responsable de la unión del receptor y la citoquina (Azevedo *et al.*, 2011; Heinrich *et al.*, 1998; Jones & Vignali, 2011). El receptor IL-6R existe también en forma soluble, con capacidad para fijar la IL-6 circulante, contribuyendo de esta forma a la activación celular. Las formas solubles de los receptores de IL-6 (IL-6Rs y gp130s) se encuentran en el plasma sanguíneo. La capacidad de formar un complejo con la forma soluble del receptor (IL-6Rs) se denomina transeñalización o transactivación y permite desencadenar respuestas en una amplia variedad de células que de otra forma permanecerían sin respuesta a la propia IL-6. Por otro lado, la forma soluble de gp130 (gp130s), previene la señalización producida por la gp130 unida a la membrana e inhibe los efectos de la IL-6 mediados por IL-6Rs, pero no los transmitidos por el receptor IL-6R (Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011). El IL-6Rs potencia la actividad antagonista del gp130s, de modo que la combinación de ambos podría actuar como amortiguador para modular las respuestas sistémicas a la IL-6 circulante (Heinrich *et al.*, 2003).

La señalización intracelular se da a través de las rutas JAK-STAT (*janus kinase-signal transducer and activator of transcription*), MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) y PI3-K/AKT (*phosphatidylinositol 3-kinase/Akt kinase*) para activar la expresión de diferentes genes con funciones esenciales en la inflamación y el desarrollo del cáncer (Fig. 26). La principal comienza con la activación de JAK quinasas, que fosforilan y activan los factores de transcripción STAT (*signal transducers and activators of transcription*), especialmente STAT3 y SHP2 (*SH2 (Src Homology-2) domain-containing tyrosine phosphatase*). STAT3 forma un dímero que se trasladará al núcleo activando la transcripción de genes diana de este transductor

de señal, así como el incremento de la expresión de RANKL (*receptor activator of nuclear factor κ B ligand*) (Azevedo *et al.*, 2011; Heinrich *et al.*, 1998; Jones & Vignali, 2011; QIAGEN, 2013).

Por su parte la SHP2 participa en la ruta Ras/MAPK, siendo imprescindible para la estimulación de la división celular. El aumento de la actividad de MAPK puede llevar a la regulación positiva del crecimiento celular, la proliferación y la mitosis. Además, la IL-6 también activa la PI3K, de modo que se inicia la cascada PI3K/Akt/NF- κ B que alcanzará su máximo efecto antiapoptótico sobre TGF- β (*transforming growth factor beta*) y con ello se conseguirá mayor supervivencia celular. Esta ruta se relaciona con la caspasa-3, ya que es a través de esta molécula que la IL-6 bloquea al TGF- β . Sin embargo, este tipo de rutas no son exclusivas, ya que los receptores alfa pueden ser sustituidos por sus formas solubles, que carecen de regiones transmembrana y citoplasmáticas. La finalización de la señalización de citoquinas tipo IL-6 se da a través de la acción de tirosina fosfatasas, proteosoma e inhibidores SOCS (*suppressor of cytokine signaling*) de JAK quinasa, PIAS (*protein inhibitors of activated STATs*), e internalización de los receptores de citoquina vía gp130 (Azevedo *et al.*, 2011; Culig *et al.*, 2005; Heinrich *et al.*, 1998; Jones & Vignali, 2011).

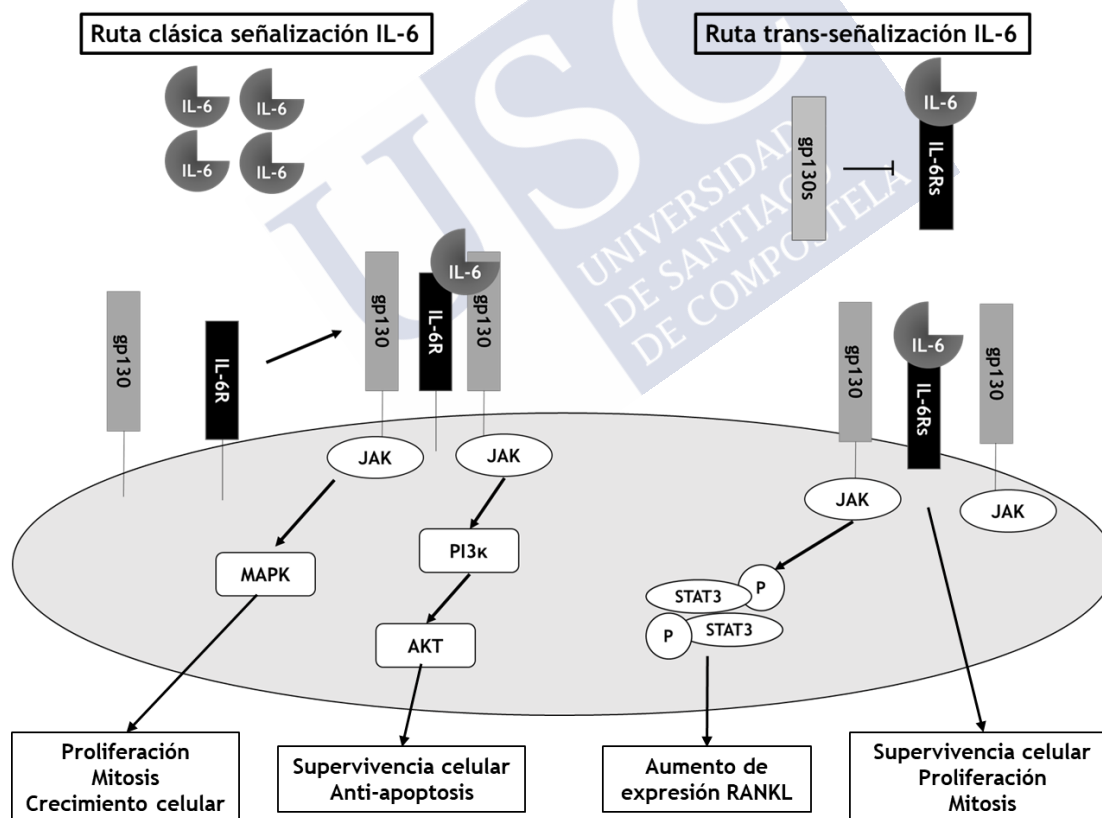


Figura 26. Ruta esquemática de la IL-6. Incluye la ruta clásica, con activación de JAK/STAT, MAPK y PI3K/AKT, y la ruta mediante receptores solubles (IL-6Rs y gp130s). Basada en Azevedo A *et al.* (2011).

Gen *IL-6* (rs1800795).

El gen *IL-6* se localiza en el brazo corto del cromosoma 7 humano, concretamente en el *locus* 7p14-21 (C. Chen, Gong, Yi, & Guo, 2015) e incluye 5 exones y 4 intrones. La expresión del gen y, por lo tanto, la concentración de IL-6, puede estar influida por la existencia de sitios polimórficos en el gen (Jureceková *et al.*, 2018). Uno de ellos es el SNP rs1800795 que está incluido en una zona relativamente conservada, anexa a la región 5' (*5' flanking region*) y considerada al menos parcialmente responsable de la regulación del gen. Consiste en un cambio nucleotídico de G por C localizado en la posición Ch7: 22727026 (Fig. 27), siendo G el alelo ancestral (Tindall *et al.*, 2012). Se ha descrito que este polimorfismo afecta a la transcripción del gen y posteriormente, a la producción de la citoquina (Abbasabad *et al.*, 2018). La regulación de la transcripción es específica de cada tipo celular, lo cual puede tener relevancia fisiológica al considerarse distintos procesos patológicos (Terry *et al.*, 2000).

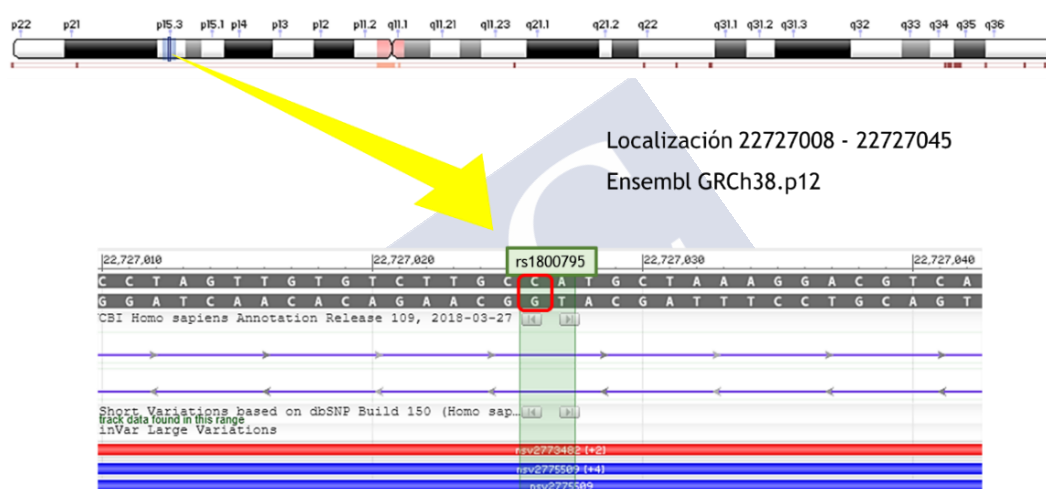


Figura 27. Localización del rs1800795 del gen *IL-6* en el cromosoma. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).

El alelo G de este SNP se ha asociado con mayor expresión y por tanto con mayor nivel de IL-6 en plasma en una población de individuos sanos (Terry *et al.*, 2000). Se ha sugerido que el cambio de G por C del rs1800795 está asociado con alteración en la producción de IL-6, por su localización en la región promotora de las puertas GATA1. La región en la que está localizado este polimorfismo tiene una secuencia parcialmente homóloga con el elemento *Smad4-binding*. Se supone que el alelo C puede unirse a Smad4 más eficientemente e inhibe la transcripción de IL-6 (Jureceková *et al.*, 2018).

Este marcador es esencialmente monomórfico en África y el este de Asia (Fig. 28), mientras que en el sur de Asia el marcador pasa a ser polimórfico (0,861). Las poblaciones del continente americano muestran una considerable variación en sus frecuencias alélicas para este SNP, entre 0,713 en Colombia y 0,947 en Perú. Por último, en poblaciones de Europa se observan los valores más equilibrados entre los dos alelos, con el valor más elevado para el alelo G en España (0,650) y el más bajo en Finlandia (0,545).

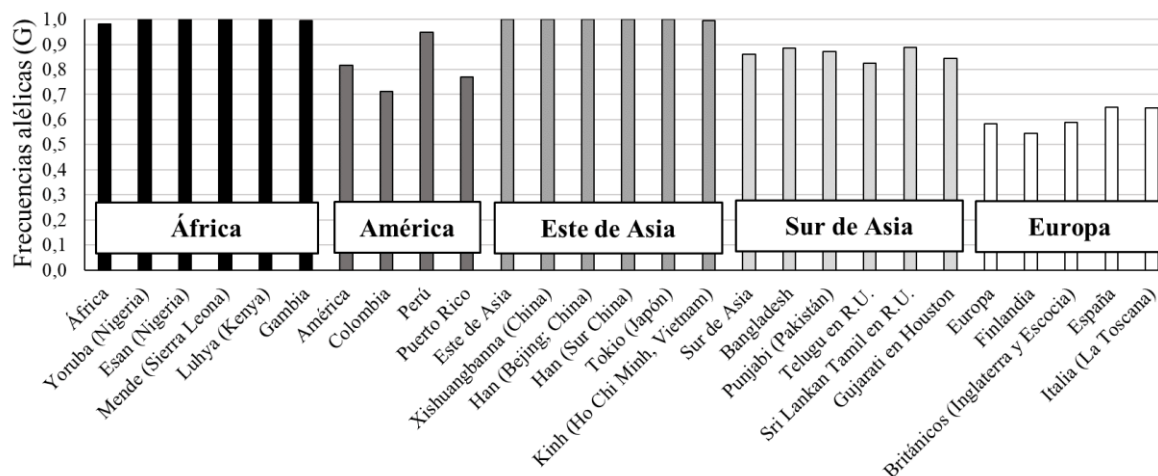


Figura 28. Representación gráfica de la frecuencia del alelo G del rs1800795 en distintas poblaciones humanas. Fuente 1000 Genomes (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015).

IL-6 y cáncer.

La IL-6 está implicada en diversas funciones celulares vinculadas a su vez al desarrollo tumoral, entre las que se incluyen la proliferación celular, la apoptosis, la angiogénesis y la diferenciación celular. Por lo tanto, esta citoquina tiene un papel crucial en el crecimiento y diferenciación de tumores malignos como el prostático, renal, melanoma, pulmonar y mieloma. Algunos de los efectos de la interleuquina en la progresión tumoral se deben a su actividad autocrina en las propias células tumorales mientras que otros son debidos a la acción paracrina en células normales del microambiente tumoral, concretamente osteoblastos, células endoteliales y células inmunes. Además, la IL-6 también modula el proceso metastásico, ya que su producción lleva al reclutamiento de células tumorales circulantes (CTC) llevando a un rápido crecimiento tumoral, la angiogénesis y el reclutamiento de células estromales. Esta molécula es producida y liberada por la mayoría de las células cancerosas y su forma sérica fue encontrada en elevadas cantidades en tejidos tumorales de variedad de cánceres (Abbasabad *et al.*, 2018; Azevedo *et al.*, 2011; Mandal, Abebe, & Chaudhary, 2014).

El papel de la IL-6 en el cáncer de próstata se ha estudiado ampliamente en los últimos años y se ha comprobado que está implicada en varios estados del inicio, el desarrollo y la progresión de la enfermedad. La IL-6 actúa como una citoquina proinflamatoria, lo que lleva a desarrollar la atrofia inflamatoria proliferativa, lesión previa al desarrollo tumoral en la próstata. Tiene la capacidad de transformar células benignas prostáticas produciendo un fenotipo maligno y de iniciar la transición epitelio-mesénquima. Además, actúa como estimulante del crecimiento paracrina y autocrino en células prostáticas tumorales, tanto benignas como malignas, conclusión que se ha visto apoyada por los niveles incrementados de dicha molécula en las células del PCa. Las células del cáncer prostático producen gran cantidad de IL-6 y expresan los receptores IL-6R (gp80) y gp130 y así pueden responder de forma autocrina a la IL-6. Por otra parte, esta citoquina favorece la independencia androgénica promoviendo la síntesis de andrógenos en células de PCa de forma autocrina. En ausencia de andrógenos causa

la activación del receptor androgénico y en casos de baja concentración de andrógenos la IL-6 potencia sus efectos (Azevedo *et al.*, 2011; C. Chen *et al.*, 2015; Mandal *et al.*, 2014; Tindall *et al.*, 2012).

El aumento en la expresión de IL-6 en pacientes con cáncer de próstata podría deberse a la acción conjunta de varias rutas de señalización o, más concretamente, a alteraciones en dichas rutas. Hay ciertos puntos clave en esta regulación, como es la activación y traslocación del NF- κ B y la AP-1 (Culig *et al.*, 2005). Su expresión, así como la de gp130, se ha localizado en células epiteliales, sin embargo, el receptor también se encuentra en el estroma prostático (Azevedo *et al.*, 2011). Estudios inmunohistoquímicos han sugerido la producción de IL-6 también en células estromales. Esta expresión en el estroma se reduce en el tejido benigno respecto al maligno y se incrementa a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad (estadio Gleason) y el pronóstico empeora (Azevedo *et al.*, 2011; Nguyen *et al.*, 2014). En determinados estudios se ha concluido que el incremento de IL-6 podría ser una indicación de metástasis de cáncer prostático (Abbasabad *et al.*, 2018). Los varones con PCa metastásico presentan elevados niveles de IL-6, especialmente en aquellos sin tratamiento o con cáncer resistente a la castración. Tanto en el caso de la IL-6 como la IL-6s sus niveles son elevados en casos de metástasis ósea (Nguyen *et al.*, 2014). Los pacientes con PCa metastásico con elevado nivel de IL-6 también tienen elevados niveles séricos de TFG- β (Culig *et al.*, 2005). Respecto a su posible papel en la metástasis, la IL-6 puede estar implicada en la angiogénesis del cáncer de próstata, un proceso por el que el tumor adquiere la capacidad de crecimiento e invasión. No parece probable que solo haya un mecanismo molecular implicado, sino que parece estar claro que rutas de señalización independientes y redundantes cooperan para activar un amplio rango de moléculas que regulan el crecimiento celular y la apoptosis. La IL-6 puede actuar como un factor de crecimiento paracrino y autocrino para las líneas celulares del cáncer de próstata, probablemente debido a un cambio funcional que la lleva a poder estimular el crecimiento de forma autocrina durante la progresión del PCa (Nguyen *et al.*, 2014). Múltiples investigaciones han mostrado una correlación entre el aumento del nivel sérico de IL-6 y el PCa metastásico, la carga tumoral y el PSA. La concentración plasmática y los mediadores de bioactividad inflamatoria podrían estar influidos por los polimorfismos genéticos existentes en el gen (Abbasabad *et al.*, 2018).

El rs1800795 se ha estudiado en relación con múltiples tipos de cáncer, entre los que destacan el cervical, colorrectal, gástrico, linfoma de no-Hodgkin, mama, pulmón y próstata. De la misma manera estos trabajos se han llevado a cabo en diversas poblaciones, que abarcan los grandes grupos de poblaciones humanas (caucasoides, asiáticos, etc.). Los resultados obtenidos fueron también considerablemente variados y en muchos casos estadísticamente no significativos. Todos los estudios estadísticamente significativos de cáncer cervical concluyeron que el alelo C ejercía efecto de riesgo, así como el único significativo realizado en cáncer colorrectal (Landi *et al.*, 2003; Nogueira de Souza *et al.*, 2006; X. Pu, Gu, & Wang, 2016; W.-J. Shi *et al.*, 2014). Por el contrario, en los dos estudios con resultados significativos en cáncer gástrico se concluyó que el alelo G era el de riesgo (Kamangar *et al.*, 2006; Pohjanen *et al.*, 2013). En el cáncer de mama y el de pulmón los resultados obtenidos no concuerdan, ya que los tres genotipos posibles han aparecido como genotipo de riesgo en un trabajo u otro (Campa *et al.*, 2004; Colakogullari *et al.*, 2008; Gonullu *et al.*, 2007; Hefler *et al.*, 2005; Snoussi, Strosberg, Bouaouina, Ahmed, & Chouchane, 2005). Un resumen de todos los artículos de tipo caso-control que analizan la asociación entre el rs1800795 y el cáncer se muestra en el anexo 1 (Tabla IV, Anexo 1).

En los estudios que relacionan este polimorfismo del gen *IL-6* con el desarrollo de cáncer de próstata se han obtenido resultados variados y, en ciertos aspectos, conflictivos. La mayoría de los trabajos concluyen que este polimorfismo está asociado al desarrollo de la enfermedad ya que puede aumentar la transcripción genética en la próstata de individuos con PCa y con ello variar los niveles séricos de la citoquina. El alelo G se ha asociado, generalmente, con niveles más elevados de IL-6, mayor actividad de transcripción y respuestas mayores a la IL-6. En cuanto al riesgo de portar un genotipo u otro los resultados obtenidos son inconsistentes, no siempre estadísticamente significativos y con variaciones en función de la población, obteniéndose riesgos más elevados en afroamericanos que en asiáticos y caucasoides (Tabla IV, Anexo 1). De la misma forma, también se ha estudiado la posible asociación del SNP y el cáncer de próstata metastásico, concluyendo que existe una asociación entre ambos (Abbasabad *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2015; Jureceková *et al.*, 2018; Mandal *et al.*, 2014; Tindall *et al.*, 2012; Yang, Li, & Li, 2014).

1.4.1.3. Interleuquina 10 (IL-10).

Estructura molecular y función.

Las citoquinas no solo tienen funciones proinflamatorias, ya que en algunos casos su función es detener o reducir el proceso inflamatorio. Excepcionalmente, existen ciertas citoquinas que tienen ambos efectos, entre las que se encuentra la Interleuquina 10 (IL-10). La familia a la que pertenece dicha interleuquina consta de 6 componentes, la propia IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 e IL-26. Este grupo de interleuquinas, junto con los interferones (IFN), forman la clase 2 de familias de citoquinas, clasificación basada en la conservación de las posiciones de cisteína en sus secuencias receptoras (Abbas *et al.*, 2007; Karp *et al.*, 2014; Vendramini-Costa & Carvalho, 2012; Walter, 2015).

La IL-10 es una citoquina homodimérica de 36 kDa, identificada en 1989, descrita en un principio como Factor Inhibidor de la Síntesis de Citoquinas, ya que su función conocida era la inhibición de citoquinas proinflamatorias (Turner *et al.*, 1997). Sin embargo, la IL-10 se caracteriza por tener efectos pleiotrópicos sobre el sistema inmune, favoreciendo e inhibiendo la respuesta inflamatoria dependiendo del mecanismo de regulación de la expresión del gen. La IL-10 es producida por gran variedad de tipos celulares entre los cuales se incluyen macrófagos, linfocitos Th1 y Th2, linfocitos B normales, monocitos, células dendríticas, queratinocitos, etc. (Trifunovic, Miller, Debeljak, & Horvat, 2015).

En la actualidad se sabe que esta citoquina cumple múltiples funciones actuando sobre distintas moléculas en diversas etapas del proceso inflamatorio. Inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias en varios tipos celulares de forma tanto directa como indirecta e inhibe al VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular) de modo que reduce su efecto sobre la angiogénesis y la supervivencia de células tumorales. La angiogénesis es un proceso que facilita el crecimiento tumoral mediante la proliferación endotelial y la movilidad de células endoteliales a través de estímulos angiogénicos y diferenciación celular. Las células tumorales y su microambiente median en el proceso angiogénico alterando la expresión de citoquinas angiogénicas como la IL-10, que a su vez promueven y/o inhiben la angiogénesis (VanCleave *et al.*, 2010). Por otra parte, esta interleuquina inhibe la expresión de IL-12, lo que previene la maduración de células dendríticas, es un potente inmunosupresor de las actividades de los

macrófagos, regula la expresión de moléculas del MHC tipo II (Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II), regula la actividad de linfocitos Th1 al inhibir la producción de IFN- γ e IL-2, favorece la producción del IL-1Ra y del receptor soluble para el TNF (Factor de Necrosis Tumoral) y favorece la expresión de Fc γ R (CD64), lo cual permite un aumento en la actividad de citotoxicidad dependiente de anticuerpos ejercida por macrófagos (Margni, 1996).

La IL-10 señala a través de un complejo receptor transmembrana tetramérico formado por dos pares de receptores pertenecientes a la familia de clase 2. La subunidad 1 (IL-10R1, IL-10RA o IL-10R α) es expresada constitutivamente por células hematopoyéticas. En las células T la producción de IL-10RA es inhibida por la activación del ARNm y de la proteína IL-10, mientras que la activación de los monocitos depende de la expresión de esta subunidad del receptor. También se produce expresión de IL-10R1, aunque en este caso inducida y no constitutiva, en células no hematopoyéticas. La segunda subunidad (IL-10R2, IL-10RB o IL-10R β) se considera una subunidad auxiliar para la señalización y contribuye secundariamente a la afinidad de unión con IL-10. Su función principal parece ser el reclutamiento de la quinasa Tyk2 (*Tyrosine Kinase-2*) en el complejo de señalización dando inicio a la señal de transducción. El IL-10R2 se expresa constitutivamente en muchas células y tejidos. La activación del complejo receptor de IL-10 produce la inhibición de la síntesis de múltiples genes de citoquinas y previene que muchas citoquinas induzcan las actividades correspondientes en sus células diana (Acuner-Ozbabacan *et al.*, 2014; Moore, Malefyt, Coffman, & O'Garra, 2001; Pestka *et al.*, 2004).

La unión de la interleuquina con su receptor para formar un complejo se produce de manera secuencial, empezando por la unión de la IL-10 al receptor de mayor afinidad (IL-1RA) y después al segundo receptor (IL-10RB). La unión de la IL-10 al dominio extracelular del primer receptor lleva a la fosforilación de Jak1 y Tyk2, que interactúan con los receptores, uniéndose constitutivamente a IL-10RA e IL-10RB, respectivamente. Esta interacción es mediada por una secuencia NH₂-terminal del dominio intracelular del receptor junto con el dominio FERM de la JAK1 (Fig. 29). A su vez dicha unión conduce a la fosforilación de residuos de tirosina específicos en el dominio intracelular del IL-1RA, a los que se unen factores de transcripción STAT (STAT3, STAT1 y STAT5). De este modo se produce la fosforilación y activación de estos factores, claves en la mediación de respuestas inmunes, que se translocan al núcleo para activar la transcripción de genes antiapoptóticos y de progresión del ciclo celular (Acuner-Ozbabacan *et al.*, 2014). La ruta de señalización para la inhibición de proliferación de macrófagos requiere la activación de STAT3, también necesaria en la acción antiinflamatoria de la IL-10. Este factor de transcripción es indispensable para la señalización en todas las células que responden a la IL-10, pero no es una ruta exclusiva, ya que otras deben ser activadas para que la inactivación de macrófagos sea efectiva. STAT1 y 5 no parecen interactuar directamente con el complejo IL-10/IL-10R y se ha sugerido la existencia de una interacción competitiva entre IL-10 e IFN inducida por mecanismos intracelulares cuya fortaleza determinará el grado de activación y la transcripción genética inducida por el interferón. Además, la IL-10 induce SOCS3, regulador del gen *stat3* en ciertas células. La inducción de SOCS y la consecuente inhibición de receptor puede mediar muchas actividades antiinflamatorias de IL-10 (Moore *et al.*, 2001; Pestka *et al.*, 2004).

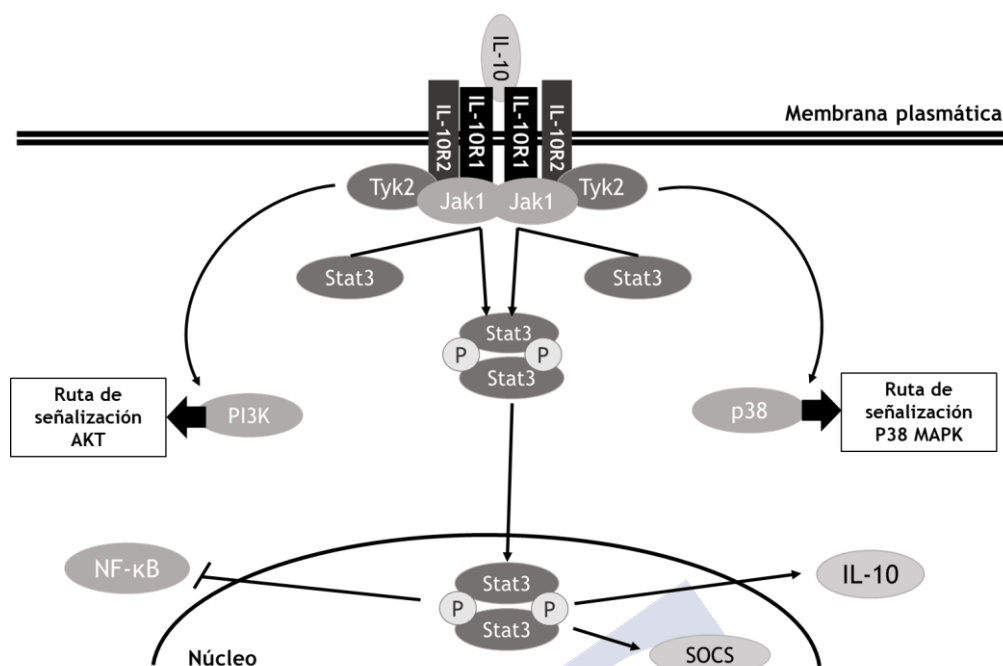


Figura 29. Diagrama de la ruta de señalización de IL-10. Basada en M.-H. Wang *et al.*, 2009.

Se han llevado a cabo estudios *in vitro* para estudiar rutas paralelas de señalización de esta citoquina en los que se ha comprobado que inhibe la activación de NF- κ B en respuesta a ciertos estímulos, al menos a través de dos rutas: inhibiendo la activación de *I κ B kinase-similar to salicylate* y mediante la inhibición de la actividad de ADN NF- κ B de unión. Además, la IL-10 también activa AP-1 y NF- κ B en células T CD8⁺. Esto sugiere que hay diferencias entre las respuestas de células T CD8⁺ y CD4⁺ a la IL-10 (Moore *et al.*, 2001).

La IL-10 puede ser expresada por gran variedad de células, normalmente en respuesta a un estímulo activador. Su expresión está claramente regulada por diferentes mecanismos en distintos tipos celulares. Además, su transcripción puede ser regulada por los factores de transcripción Sp1 y Sp3, a su vez expresados constitutivamente por diferentes tipos de células. Esto, combinado con el control de la estabilidad de ARNm a nivel postranscripcional, sugiere que el gen *IL-10* se transcribe constitutivamente hasta cierto punto, ya que por otro lado también está sujeto al control mediante mecanismos de degradación de ARN postranscripcionales. Bajo ciertas circunstancias este mecanismo puede facilitar un control más rápido de la expresión de *IL-10* que la que puede lograrse solo con la activación de la transcripción (Moore *et al.*, 2001).

Gen *IL-10* (rs1800896).

El gen *IL-10* está localizado en el cromosoma 1 humano, en la posición 1q31-32. Ocupa entre 4,7-5,2 kB y contiene 4 intrones y 5 exones. Inicialmente se sintetizan precursores constituidos por 178 aminoácidos, que poseen una señal hidrofóbica. La escisión en el sitio señalizado origina una proteína de 150 aminoácidos (18 kDa) que contiene 5 residuos de cisteína conservados y 2 sitios potenciales de glucosilación, aunque la proteína IL-10 humana no presenta glucosilación (Margni, 1996).

Los polimorfismos de *IL-10* son particularmente interesantes en relación al cáncer debido a las propiedades aparentemente contradictorias de esta interleuquina. De los polimorfismos de nucleótido único conocidos, 28 se localizan en la región promotora y 20 son intrónicos no codificantes o sustituciones sinónimas. El analizado en este trabajo es el rs1800896, una sustitución de A por G en la posición -1082 de dicha zona, siendo A el alelo ancestral. La localización del polimorfismo en el cromosoma se muestra en la figura 30 (Casas-Vargas & Gómez-Gutiérrez, 2008; Howell & Rose-Zerilli, 2006; Zou *et al.*, 2011).

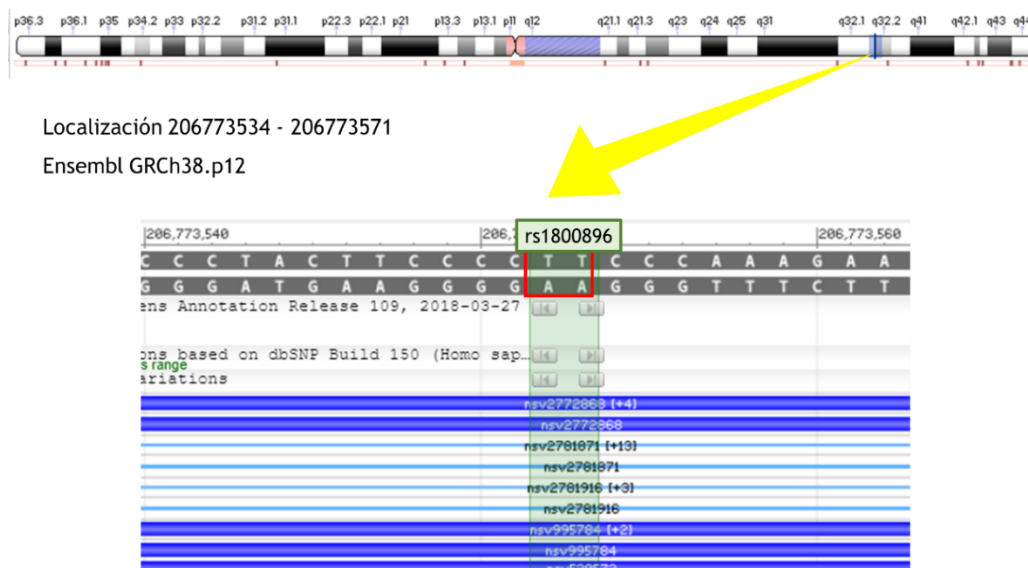


Figura 30. Localización del rs1800896 en el cromosoma 1. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).

Las frecuencias alélicas varían considerablemente entre las poblaciones de los diferentes grupos humanos (Fig. 31). Las más altas y homogéneas para el alelo ancestral se encuentran en el este asiático (aproximadamente 0,9) mientras que el sur de Asia presenta frecuencias también elevadas, pero no tan homogéneas (0,7-0,8). En América y África se han estimado frecuencias muy semejantes, ninguna superior a 0,75 (Perú). Los valores más bajos se encuentran en Europa, siendo los británicos los únicos que manifiestan un valor por debajo de 0,5 (concretamente 0,456) (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

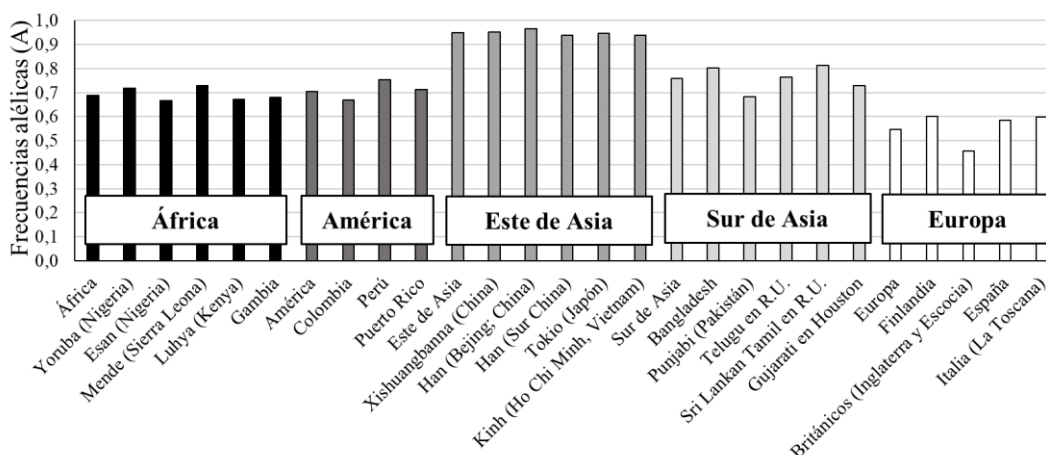


Figura 31. Representación gráfica de la frecuencia del alelo A del rs1800896 en distintas poblaciones humanas. Fuente 1000 Genomes (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

IL-10 y cáncer.

Se considera que la IL-10 es una citoquina inmunosupresora que inhibe la respuesta inmune contra el cáncer, de tal modo que un descenso en la producción de IL-10 podría mejorar las respuestas inmunes específicas de pacientes en algunos modelos de tumores preclínicos (Miteva, Stanilov, Deliysky, & Stanilova, 2014). La producción de IL-10 es estimulada tanto por factores endógenos como exógenos, pero también es importante tener en cuenta el efecto de ciertas variantes alélicas del gen, asociadas a su vez con diferencias en su expresión. El gen *IL-10* es un candidato ampliamente estudiado en la fisiopatología de enfermedades autoinmunes, inflamatorias y neoplasias, ya que regula la inmunidad celular y humoral (Trifunovic *et al.*, 2015). Múltiples estudios han contabilizado concentraciones elevadas de IL-10 en pacientes con cáncer, que pueden deberse a múltiples razones y tener diferentes implicaciones. La IL-10 puede ser expresada por células tumorales, mientras que en otros casos puede ser producida por células implicadas en la reacción antitumoral, como indicador de una respuesta inflamatoria potente (Moore *et al.*, 2001). La cantidad de IL-10 liberada a la sangre no parece estar afectada por la localización del tumor sino por su histología. Los niveles séricos de IL-10 parecen, además, depender más de la presencia de metástasis que de la masa, grado o nodos tumorales. Las células tumorales podrían producir IL-10 por sí mismas o estimular otras poblaciones celulares, como macrófagos o linfocitos de infiltración tumoral para que la liberen. Independientemente de la fuente, esta citoquina parece funcionar como un amortiguador de reacciones inmunes e inflamatorias (Fortis *et al.*, 1996).

En células de infiltración tumoral la IL-10 inhibe la inmunidad y la tolerancia inmune favoreciendo el crecimiento del tumor. La IL-10 es secretada por tumores de modo que permite a las células escapar de los ataques del sistema inmune (Miteva *et al.*, 2014). En ciertos estudios se ha propuesto que el bloqueo de la señalización de IL-10 llevaría a producir inmunidad antitumoral, remarcando el efecto protumorigénico de esta citoquina (Acuner-Ozbabacan *et al.*, 2014). En otros estudios se ha observado que una elevada concentración de IL-10 podría facilitar el desarrollo del cáncer mediante la supresión de expresión de los antígenos del MHC clase I y II y evitando la entrega del antígeno tumoral a los linfocitos T CD8 citotóxicos (Matsuda *et al.*, 1994). En estudios con modelos animales se ha observado efecto antitumorigénico de esta citoquina, ya que al inhibir su producción se produjo un incremento del desarrollo tumoral. Estos efectos aparentemente opuestos se deben a la pleiotropía que caracteriza a esta citoquina, así como a la variedad de lugares en que se produce (Acuner-Ozbabacan *et al.*, 2014). La aparente incoherencia de los resultados obtenidos refleja el papel dual de la IL-10 como citoquina antiapoptótica (potencialmente promotora del desarrollo del cáncer) y antiangiogénica (potencialmente inhibidora del cáncer).

Mediante el estudio con diferentes modelos se han encontrado efectos inmunosupresores e inmunoestimuladores de la IL-10. Puede actuar como mediador negativo entre la inmunidad antitumoral adaptativa e innata. Su expresión en células tumorales ha sido asociada con la expresión incrementada de la molécula HLA de clase Ib (HLA-G), que puede inhibir la actividad citolítica de células NK y CTL. En varios estudios se ha aislado IL-10 de zonas tumorales, asociándolo además con un aumento en los efectos protumorales de otras moléculas como CTLA-4 o COX-2. Sin embargo, también se han encontrado resultados opuestos a estos, en los que al añadir IL-10 se ha observado un incremento de la acción inmune y regresión tumoral. *In vivo*, la IL-10 puede influir en la progresión y desarrollo del cáncer mediante fenómenos no inmunes relacionados, tales como la angiogénesis, la proliferación celular maligna y la apoptosis (Mocellin, Marincola, & Young, 2005).

En muchos estudios realizados sobre la influencia de polimorfismos del gen *IL-10* en el riesgo a desarrollar cáncer se ha encontrado asociación positiva. En algunos se han asociado genotipos concretos con baja expresión de IL-10 como un factor de riesgo para el desarrollo y progresión de la enfermedad, mientras que en otros los genotipos o haplotipos analizados se han asociado con niveles de expresión de IL-10 elevados como factor de riesgo. Además, la asociación entre el genotipo de *IL-10* y su expresión puede diferenciarse entre tejidos y estados de la enfermedad, así como de estímulos antigénicos y no antigénicos (Howell & Rose-Zerilli, 2006).

El alelo G del polimorfismo rs1800896 se ha correlacionado con un incremento en la expresión de IL-10 debido a la elevada afinidad de esta variante alélica por el factor de transcripción Sp1, lo que puede contribuir a elevados niveles de producción de IL-10 (Miteva *et al.*, 2014). En estudios realizados para ciertas enfermedades, incluidas varias neoplasias, se ha descrito una mayor presencia del alelo G en casos que en controles que se ha relacionado con un mayor nivel de expresión de la IL-10. Tanto la sobreexpresión como la deficiencia son probablemente fisiopatológicas y significativas (Trifunovic *et al.*, 2015). El estudio de Miteva y colaboradores (2014) concluye que el SNP -1082A/G del gen IL-10 tiene efecto significativo sobre la progresión de cáncer colorrectal. Ser portador de los genotipos AG y GG, responsables de una mayor producción de IL-10, generaría una elevada transcripción del gen a nivel local y sistémico en pacientes con cáncer colorrectal, llevando a niveles elevados de IL-10 sérico, lo que podría estar asociado con la progresión del tumor.

En las últimas décadas se han realizado múltiples estudios que analizan la posible relación entre el desarrollo del cáncer y el rs1800896 con resultados generalmente controvertidos debido a su elevada variabilidad (Tabla V, Anexo 1). En lo que respecta a los estudios caso-control de PCa, se comprobó que el polimorfismo -1082G>A altera la expresión de la interleuquina. De este modo se espera que exista relación entre el desarrollo de la enfermedad y el cambio nucleotídico (McCarron *et al.*, 2002; Turner *et al.*, 1997). Sin embargo, varios estudios muestran ausencia de asociación entre el desarrollo del PCa y el rs1800896 (Faupel-Badger *et al.*, 2008; Kesarwani, Ahirwar, *et al.*, 2009; Michaud *et al.*, 2006; VanCleave *et al.*, 2010; J. Xu *et al.*, 2005; Zabaleta *et al.*, 2008). En dos casos se han analizado haplotipos, con resultados significativos que asocian el alelo A al desarrollo de la enfermedad (Eder *et al.*, 2007; Faupel-Badger *et al.*, 2008). En 2002 el equipo de McCarron obtuvo OR significativos de riesgo para el genotipo AA asociado a menor producción de la proteína. Wang y colaboradores (2009) concluyen que el heterocigoto AG ejerce efecto de riesgo frente al homocigoto GG (OR 1,69 (1,10-2,6)) y el homocigoto AA frente a GG presenta un riesgo ligeramente mayor (OR 1,81 (1,11-2,96)), en ambos casos estadísticamente significativos. Por último, en un estudio de 2012 se concluyó que hombres portadores de la variante alélica G tienen menor riesgo de recurrencia de PCa que los individuos AA (Dluzniewski *et al.*, 2012).

1.4.1.4. Interleuquina 17A (IL-17A).

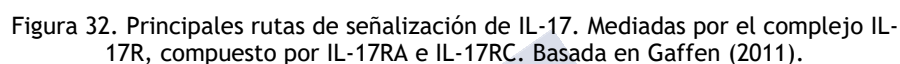
La familia de citoquinas IL-17 consta de seis miembros muy semejantes entre sí, que van de la IL-17A a la IL-17F, de acuerdo con el orden en el que fueron descubiertas (Chang & Dong, 2007; Kawaguchi, Adachi, Oda, Kokubu, & Huang, 2004; Pappu, Ramirez-Carrozzi, & Sambandam, 2011). Paralelamente se han descrito cinco receptores (IL-17RA-E) a los que se unen cada uno de los ligandos (Chang & Dong, 2007; Pappu *et al.*, 2011). Muchos estudios se

han centrado en la primera de estas citoquinas, la IL-17A o simplemente IL-17, además de en la última, IL-17F, debido a la elevada homología (50%) entre ambas. Por su parte IL-17B, IL-17C, IL-17D e IL-17E presentan un nivel de homología bastante menor (16-30%). Los *loci* que codifican las citoquinas IL-17A e IL-17F, ambos situados en el cromosoma 6, son muy semejantes en su secuencia de aminoácidos, en su estructura molecular, en la transducción de señales y en sus funciones, teniendo ambas la capacidad para inducir quimioquinas relevantes para el reclutamiento y activación de neutrófilos. Ambas se unen a los receptores IL-17RA e IL-17RB mientras que IL-17F también posee la capacidad de unirse a su propio receptor IL-17RC (Yanbo Liu *et al.*, 2015; Moseley, Haudenschild, Rose, & Reddi, 2003; Quan *et al.*, 2012; L.-J. Yang *et al.*, 2016). Las citoquinas de la familia IL-17 son producidas por gran variedad de tejidos, entre los que se incluye el tejido prostático, sin embargo, no parecen estar totalmente estudiadas sus funciones en este órgano concreto, aunque se supone que son semejantes a las que llevan a cabo en otros tejidos (Fossiez *et al.*, 1998; Lindén, 2001; Moseley *et al.*, 2003).

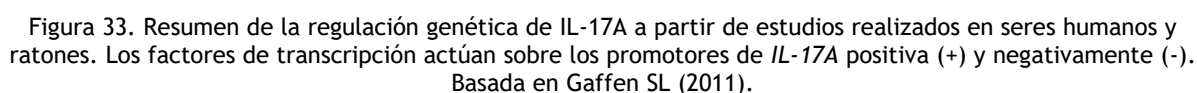
Estructura molecular y función.

La IL-17 es un homodímero con peso molecular de 15 kDa, conocida originalmente como CTLA-8. Es un polipéptido de 155 aminoácidos conservativo en el extremo C-terminal, pero con una variación significativa en la secuencia N-terminal, consistente en 19-23 residuos de aminoácidos relacionados principalmente con la transducción de señal (L. Yang *et al.*, 2016). El receptor de IL-17A está formado por IL-17RA emparejado con IL-17RC, complejo que también actúa como receptor para IL-17F y para el heterodímero IL-17A/F. La afinidad del ligando por la subunidad recíproca aumenta a medida que se produce unión del receptor al ligando. Se cree que IL-17RA podría ser la subunidad de señalización común a todos los miembros de la familia IL-17 (Gaffen, 2009, 2011).

La IL-17 señala mediante la fosforilación de Act1 (Fig. 32), un adaptador y la ubiquitin-ligasa caja-U E3 (*U-box E3 ubiquitin ligase*), que contienen el dominio SEFIR y una unión-TRAF. Asimismo, activa la ruta clásica NF- κ B mediante distintas vías, para lo que se requiere tanto Act1 como TRAF6. Además, activa otros factores de transcripción, como I κ B ζ y C/EBP, así como MAPK y, posiblemente, Pi3K. La actividad señalizadora de IL-17A es, en principio, modesta, aunque aumenta sinérgicamente con varias moléculas como LT α , IFN- γ , IL-1 β y, especialmente, con TNF- α . Pese a no conocerse todos los mecanismos de esta sinergia se ha comprobado que un paso importante es la mejora en la estabilidad del ARNm de genes diana de la IL-17 gracias a la actuación sinérgica de la citoquina con las moléculas anteriormente citadas, como es el caso de la IL-6 y CXCL1, cuya transcripción se incrementa al actuar de forma combinada la IL-17 con el TNF- α (Gaffen, 2011).



Como se refleja en la figura 33, hay varios factores de transcripción con influencia sobre la regulación de los promotores *IL-17A*. El factor de transcripción BATF, de la familia AP-1, así como STAT3, NFATc1 y RUNx1, están implicados positivamente en la regulación genética de *IL-17A*. Por otro lado, hay una serie de factores de transcripción que inhiben, directa o indirectamente, la *IL-17A*, como son el ROR- γ t, que actúa con otros factores como Foxp3, STAT5 y la forma hormonalmente activa de la vitamina D. Tanto TGF- β , mediado por SMAD, como la quinasa IKK α participan a varios niveles en la regulación de la transcripción de *IL-17A*. Todos estos factores de transcripción, regulan a su vez la diferenciación de células Treg y Th17 (Gaffen, 2011; Ichiyama *et al.*, 2011; Ivanov, Zhou, & Littman, 2007; Murugaiyan & Saha, 2009; X.-P. Yang *et al.*, 2011; F. Zhang, Meng, & Strober, 2008). Normalmente la regulación del *IL-17A* se compara con la de *IL-17F*, ya que ambos están estrechamente interrelacionados. Entre ambos genes hay una secuencia conservada no codificante cuya cromatina se remodela considerablemente al recibir señales a través de TGF- β e IL-6, lo que parece estar implicado en la regulación de estas citoquinas (Gaffen, 2011).



La IL-17 es un factor de iniciación temprana de la respuesta secretada únicamente por células T activas que conectan el sistema inmune adaptativo y el innato (N. Wang *et al.*, 2014; L.-J. Yang *et al.*, 2016). Dentro de los distintos tipos de células T, la IL-17 es secretada preferencialmente por las células T colaboradoras CD4⁺, denominadas Th17, que participan en el control de la respuesta inmune. Además, también puede ser secretada por células T CD8⁺ y células del sistema inmune innato como células NKT, células inductoras de tejido linfoide o células $\gamma\delta$ -T. Las células Th17 llevan a cabo un papel importante contra patógenos extracelulares e intracelulares (Y.-W. Gao, Xu, Xu, Li, & Zhou, 2015; Huppler, Bishu, & Gaffen, 2012; Omrane *et al.*, 2014).

Estas células Th17 se originan por la acción de múltiples moléculas desencadenantes de la diferenciación e inducción, entre los que se incluyen TGF- β , IL-6, IL-1 β e IL-12, siendo la IL-6 y el TGF- β factores esenciales. También es relevante la IL-23, que es esencial para el mantenimiento y actividad de las células Th17. La IL-21, producida mediante diferenciación de células Th17 a partir de IL-6, va a llevar a su vez a la generación de más células Th17 de manera autocrina. Además, la IL-21 induce la expresión del receptor en células Th17 de manera que aumenta su sensibilidad a la estimulación de Th17. Esta diferenciación requiere la expresión del factor ROR- γ t dependiente de STAT3. El factor de transducción STAT3 es activado por IL-6, IL-21 e IL-23 y se une coordinadamente a los promotores de IL-17, aumentando su producción, siempre y cuando no esté presente Foxp3 (Fig. 34) (Lv *et al.*, 2015; Murugaiyan & Saha, 2009).

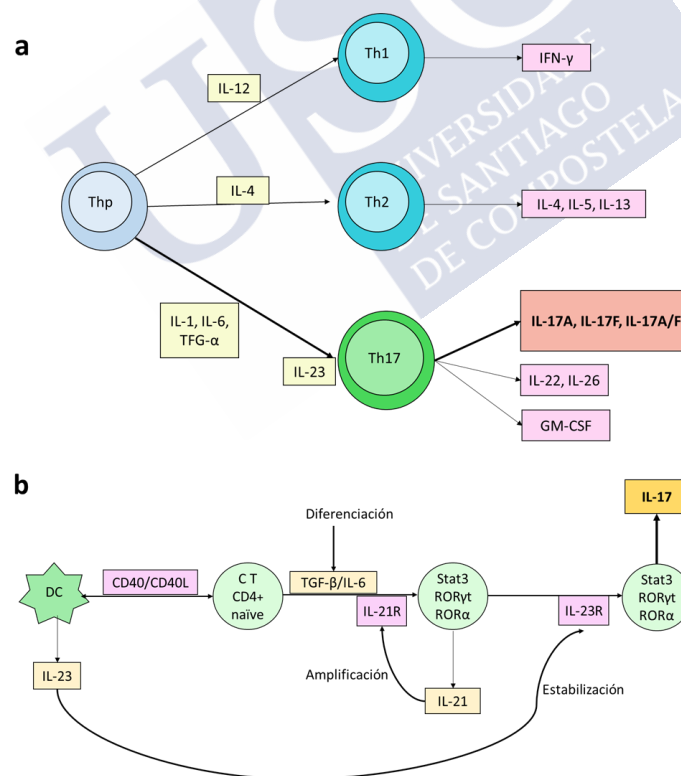


Figura 34. Diferenciación de las células Th17 a) Las células Th17 surgen a partir de señales diferenciadoras de IL-1, IL-6 y TNF- α , mientras que la IL-23 es responsable de su estabilización y mantenimiento. Estas células producen IL-17A, IL-17F, IL-17A/F, IL-23, IL-26 y GM-CSF. Basada en Gaffen SL., 2011. b) Diferenciación y estabilización de células Th17. DC: células dendríticas; CT CD4⁺ naíve: células T CD4⁺ primitivas. Basada en Murugaiyan G y Saha B (2009).

Las células Th17 están estrechamente relacionadas con otras subpoblaciones celulares, como es el caso de las células Treg y las Th1, con las que comparte una elevada plasticidad, ya que las células Th17 y las Treg pueden transformarse las unas en las otras en caso de que sea necesario. Además, ambas tienen la capacidad de transformarse en células Th1. Este proceso de plasticidad tiene distintos niveles de regulación, dependientes de genes de factores de transcripción concretos, como el ROR- γ t, considerado el principal regulador de las células Th17. Tanto estas células como las Treg surgen a partir de señales dependientes de TGF- β , un factor relevante en la regulación de IL-17A. La IL-2 inhibe, mediante STAT5, la generación de Th17, pero a su vez tiene un efecto positivo en la activación de células Treg con las que su receptor tiene elevada afinidad. Esta relación entre las células Treg y el IL-2R permite que las células reguladoras anclen la IL-2 y reduzcan el efecto supresor sobre las células Th17. Otra citoquina considerada un factor crucial en la reciprocidad entre Treg/Th17 es la IL-6, que junto con el TGF- β , aumenta la diferenciación de células Th a células Th17. El último eslabón de células T son las células Th1, cuya diferenciación está regulada por IL-17 y a su vez regulan la producción de IL-12. También inhiben la producción de células Th17 mediante IFN- γ . Un esquema sencillo de la diferenciación de las células Th17 se puede observar en la figura 34 a. (Gaffen, 2011).

La IL-17 origina la migración de células endoteliales e induce a los fibroblastos a regular positivamente factores pro-angiogénicos como el VEGF, MIP, prostaglandinas y óxido nítrico, relacionados con la angiogénesis y el crecimiento *in vivo* de las células tumorales (Elkahwaji, 2013). La proliferación celular y angiogénesis se lleva a cabo mediante reclutamiento de neutrófilos que liberan citoquinas inflamatorias, de modo que induce el desarrollo de desórdenes como son los tumores o la inflamación crónica (L.-J. Yang *et al.*, 2016).

Los genes estimulados por IL-17 codifican proteínas antimicrobianas, factores de activación de neutrófilos e inductores de la respuesta de fase aguda. Pese a su origen, la IL-17 actúa fundamentalmente en células epiteliales, endoteliales y estromales. Muchos de los efectos mediados por células Th17 se atribuyen a la citoquina IL-17 debido a su elevada producción en células Th17 (Gaffen, 2011).

Gen *IL-17* (rs2275913).

El gen *IL-17A* está situado en el cromosoma 6 humano, concretamente en la posición 6p12 y está constituido por 3 exones y 2 intrones.

El rs2275913 está localizado en la región promotora del gen, en la posición 52186235 del cromosoma, tal y como se muestra en la figura 35 (Espinoza *et al.*, 2011; Ouyang, Kolls, & Zheng, 2008; Sherry *et al.*, 2001), y consiste en un cambio nucleotídico de A por G.

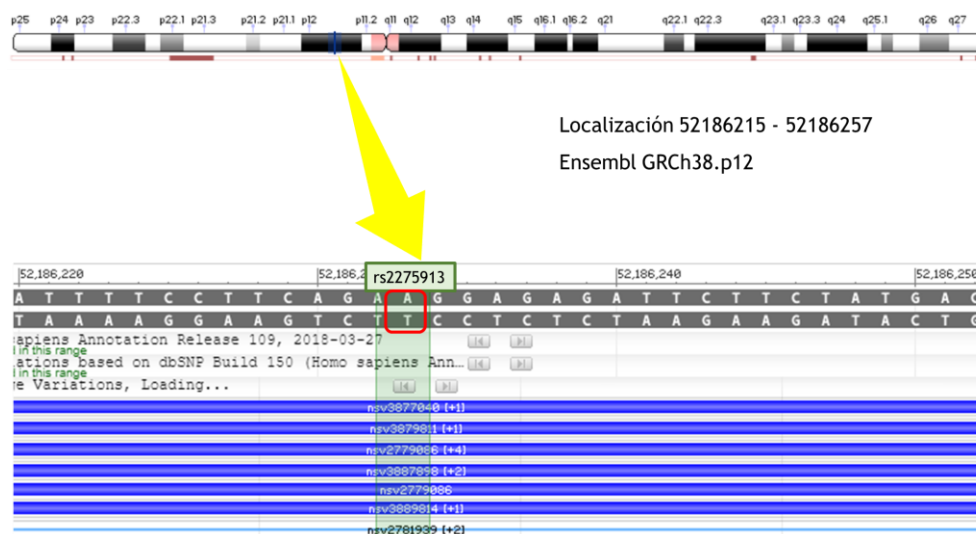


Figura 35. Localización del rs2275913 del gen *IL-17A* en el cromosoma 6. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).

Se observa una considerable variabilidad en las frecuencias alélicas de este polimorfismo entre los principales grupos de poblaciones humanas, tal y como se puede observar en la figura 36. De manera global el alelo de menor frecuencia (MAF) para este marcador es el alelo A, que es también el alelo ancestral. Todos los datos de frecuencias alélicas se darán respecto a éste. La población que más difiere de las demás es la población africana, con una frecuencia alélica global de 0,049 para el alelo A. Por el contrario, en el este de Asia se observan las frecuencias más altas con valores que llegan a superar el 50%, como es el caso de la población Han del sur de China y de Xishuangbanna, también en China. En poblaciones de origen europeo se observan frecuencias de alrededor del 40%, mientras que en América la frecuencia se reduce con valores que oscilan entre 0,12 y 0,26. En España se observa una frecuencia alélica media para el alelo A de 0,369, que se sitúa dentro del rango de variación de las poblaciones europeas y del sur de Asia (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

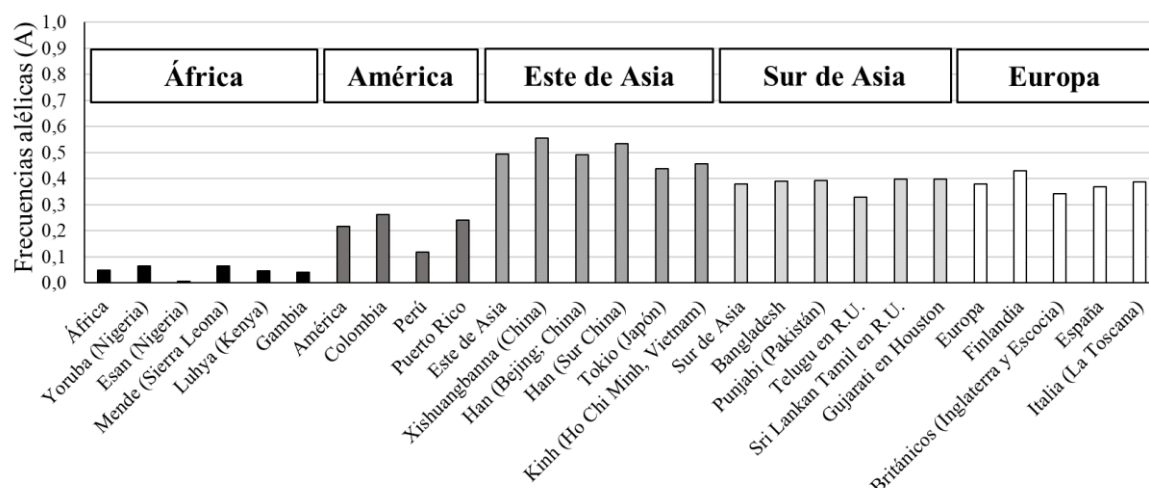


Figura 36. Representación gráfica de la frecuencia del alelo A del rs2275913 en distintas poblaciones humanas. Fuente *1000 Genomes* (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

IL-17A y cáncer.

Aunque la actividad de la IL-17 es de gran importancia para el correcto funcionamiento de la respuesta inmunitaria, bajo ciertas condiciones, como las que se presentan en el microambiente tumoral, la IL-17 puede favorecer el crecimiento tumoral. Los mediadores inflamatorios que inhiben la producción de IL-17, con sus funciones pro y anti-tumorigénicas, actúan en tándem regulando sus efectos (Lv *et al.*, 2015; Murugaiyan & Saha, 2009). Por otra parte, se ha asociado un exceso de IL-17 con una inflamación anormal, que a su vez estaría implicada en distintas patologías entre las que se encuentra el cáncer, en el que produce tanto crecimiento del tumor como su regresión, dependiendo de ciertas condiciones y factores (Huppler *et al.*, 2012; Murugaiyan & Saha, 2009).

En lo que se refiere a la inflamación crónica, a partir de la ruta inflamatoria de la IL-3, que activa las Th17 para la activación de las IL-17A e IL-17F, se ha visto que la IL-17 está estrechamente asociada con el desarrollo de tumores. También tiene relación con la inflamación aguda, en la que la IL-17 es rápidamente secretada y acumulada en el lugar de la inflamación, destruyendo o eliminando carcinógenos externos y protegiendo al individuo del daño (L. Yang *et al.*, 2016).

En diversos estudios se ha asociado la IL-17 con el desarrollo de PCa, por su papel clave en respuestas de inmunidad innata y adaptativa, afín a la relación existente entre la inflamación y el desarrollo y progresión de dicho cáncer (De Angulo, Faris, Daniel, Jolly, & DeGraffenried, 2015; N. Wang *et al.*, 2014).

Entre los factores que intervienen en el efecto de la IL-17 en el desarrollo del cáncer se encuentran, por ejemplo, el subconjunto de células Th1 secretoras de IFN- γ y CTLs, que interceden en la inmunidad antitumoral; las células Treg y T1, que disminuyen la inmunidad frente a antígenos asociados a tumores y representan el principal obstáculo para el éxito del tratamiento por inmunoterapia; y el subconjunto de células Th17 que podría inducir el crecimiento tumoral, pero también la regresión del tumor, lo que resume la paradoja alrededor de la IL-17 y el desarrollo del cáncer (Murugaiyan & Saha, 2009).

La IL-17 tiene actividad protumorigénica ya que colabora en la progresión del tumor, la proliferación de las células tumorales y su supervivencia. Favorece la producción de VEGF y, con ello, aumenta la capacidad de angiogénesis. Está vinculada a múltiples factores, entre los que se encuentra la IL-8, que aumenta la angiogénesis en células endoteliales, incrementa la proliferación y supervivencia de células endoteliales y cancerosas y potencia la migración de estas células. Otro ejemplo de interacciones protumorigénicas se da en macrófagos, en los que la IL-17 actúa sinérgicamente con IL-1 β y TNF- α activando quimioquinas neutrófilo-específicas. Muchos factores con efectos protumorigénicos vinculados con la IL-17 tienen en común la ruta NF- κ B, que actúa como puente entre inflamación y cáncer. La supervivencia del tumor depende, de forma destacable, del balance entre quimioquinas, que pueden estimular o inhibir la proliferación y quimiotaxis de las células epiteliales de vasos sanguíneos, dando lugar a la angiogénesis o a efectos antiangiogénicos. Este balance está regulado por varios factores, por ejemplo, el IFN- γ es un inductor de quimioquinas angiostáticas como la CSCL10, mientras que IL-17 tiene la capacidad de alterar dicho equilibrio entre quimioquinas mejorando la actividad angiogénica (Murugaiyan & Saha, 2009).

En lo que se refiere a la actividad antitumoral de la IL-17 tienen gran importancia las células Th17 polarizadas, más efectivas que las Th1 en la eliminación del desarrollo de diversos tumores. Estas células Th17-polarizadas también segregan citoquinas asociadas con el fenotipo Th17, como IL-17F, IL-22, IL-21 y CCL20. El efecto de las respuestas mediadas por Th17 depende de IFN- γ . La IL-17 induce la producción de IL-6 y su estimulación induce la producción de IL-12 en macrófagos. Ambas interleuquinas, 6 y 12, inducen CTLs. Además, provoca la maduración de células dendríticas mejorando así la producción de IL-17 en tumores. Por tanto, la IL-17 permite un canal suplementario para que las células inmunes ataquen el interior del cuerpo del tumor (Murugaiyan & Saha, 2009).

La IL-17 actúa de manera indirecta incrementando los niveles de otras citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento liberados localmente en la próstata. También actúa directamente en células del tumor prostático e induce su crecimiento y metástasis, tal como parece indicar el incremento de ARNm y de expresión de citoquinas como IL-6 e IL-8 en células prostáticas tumorales y en células estromales tratadas *in vitro*. Se ha observado un incremento del nivel de ARNm de IL-17 en aproximadamente el 58% del tejido prostático maligno. Por otra parte, en más del 50% de los casos de cáncer de próstata se ha observado un incremento de la expresión de IL-17. Existe una relación directa entre el aumento en la expresión de IL-17 en tejidos con cáncer y el aumento del número de células Th17. En cuanto a los receptores de IL-17 (IL-17RA e IL-17RC) también muestran una elevada actividad en individuos con cáncer de próstata (De Angulo *et al.*, 2015; Elkahwaji, 2013; Steiner *et al.*, 2003).

Entre los distintos tipos de tumores que se han estudiado en relación con el SNP rs2275913 consistente en un cambio de A/G, se encuentran el colorrectal, cervical, esofágico, gástrico, hepatocelular, mama, ovario, leucemia mieloide aguda, toroides, pulmón y vejiga. En ningún estudio de casos-controles se ha analizado el cáncer de próstata y su posible relación con este polimorfismo concreto, pese a haberse estudiado en relación a otros SNPs localizados en el gen de la IL-17A. Los tumores más estudiados en relación al rs2275913 son el cáncer gástrico y el cervical. Los resultados obtenidos, independientemente de la presencia o ausencia de significación estadística, indican en su mayoría un efecto de riesgo del alelo A (MAF) frente al desarrollo de cáncer. Sin embargo, hay cinco estudios en los que los resultados parecen indicar un posible efecto de riesgo del genotipo GG frente al genotipo AA. Por último, en uno de los estudios, con resultado estadísticamente significativo, se observa un efecto de riesgo del heterocigoto (Tabla VI, Anexo 1).

La mayor parte de estos estudios se han realizado en población asiática. Hasta la fecha se han realizado pocos estudios en poblaciones caucasoides que relacionen este polimorfismo y la patogénesis del cáncer. El mayor de ellos fue llevado a cabo en población rusa por Kutikhin y colaboradores (2014), en el que analizan la influencia de una serie de marcadores, entre los que se incluye el rs2275913, sobre distintos tipos de cáncer.

1.4.1.5. *Macrophage Migration Inhibitory Factor* (MIF).

Estructura molecular y función.

El Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos, llamado MIF por sus siglas en inglés (*Macrophage Migration Inhibitory Factor*), fue una de las primeras citoquinas mediadoras

estudiadas, caracterizada inicialmente como una citoquina derivada de células T con capacidad de inhibir la migración de los macrófagos (Bach *et al.*, 2009). Se ha descrito este factor como una citoquina proinflamatoria con capacidad de regular la inflamación y la inmunidad específica e inespecífica al expresarse pleiotrópicamente (Y. Chen *et al.*, 2010; K. L. Meyer-Siegler, Iczkowski, & Vera, 2005; Muramaki, Miyake, Yamada, & Hara, 2006).

En su forma monomérica MIF está formado por 115 aminoácidos con un peso molecular de 12,5 kDa. Su estructura secundaria consiste en dos α -hélices antiparalelas y seis láminas β plegadas y presenta un elevado grado de similitud con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). La forma activa de MIF consta de tres monómeros de MIF que se alinean formando una molécula homotrimérica (37,5 kDa). El MIF está íntimamente relacionado con la enzima D-dopacromo-tautomerasa (DDT), tanto en términos de secuencia y estructura del gen, como de actividad enzimática, ya que ambas son tautomerastas. Además, los genes *DDT* y *MIF* están estrechamente ligados en el cromosoma 22 (Babu, Chetal, & Kumar, 2012; Bach *et al.*, 2009; Meyer-Siegler *et al.*, 2005; Walker, 1976).

La función del MIF se ha reevaluado a lo largo del tiempo. En la actualidad se la considera una citoquina pluripotente, con un amplio espectro de funciones relacionadas con el sistema inmune, que se expresa constitutivamente en varios tipos celulares y que actúa de forma paracrina y autocrina (Meyer-Siegler *et al.*, 2005; Muramaki *et al.*, 2006). Además, su actividad catalítica oxidorreductasa es la responsable de algunos de sus efectos biológicos (Hussain *et al.*, 2013). Por lo tanto, actúa principalmente como una proteína proinflamatoria, regulando la inmunidad innata, colaborando en funciones de los macrófagos tales como fagocitosis, adherencia o expansión. Además, actúa como mediador inflamatorio, estimulando la expresión de citoquinas como TNF- α , IL-1 o IL-6 (Babu *et al.*, 2012). Su actividad no se limita a actuar sobre los macrófagos, sino que también es producido por éstos como respuesta a endotoxinas, exotoxinas y citoquinas tales como TNF- α e IFN- γ (Bach *et al.*, 2009). Por lo tanto, este factor regula la función de macrófagos y linfocitos, además de ser un inhibidor de glucocorticoides, es decir, anula la supresión inmune mediada por éstos como parte de su actuación sobre el sistema inmune (Y. Chen *et al.*, 2010). Es una citoquina inducida por glucocorticoides y modula la producción de citoquinas como respuesta a niveles hormonales concretos (Meyer-Siegler *et al.*, 2005). También lleva a cabo un papel relevante en la proliferación celular y la diferenciación, con la capacidad de suprimir la actividad del p53, lo que podría dar lugar a un crecimiento celular incontrolado. Además, puede inhibir ciertas funciones de células inmunes. También se lo vincula con el proceso de angiogénesis tumoral, ya que induce la secreción de factores angiogénicos como VEGF e IL-8 (Babu *et al.*, 2012).

Por otra parte, este factor regula genes *COX*, implicados en la regulación de la proliferación celular y en procesos de inflamación y, además, puede ser estimulado, a su vez, en respuesta a la inhibición de uno de ellos, concretamente el gen *COX-2*. Así, la forma activa de MIF también regula genes proinflamatorios y de supervivencia celular (Kleemann & Bucala, 2010; Meyer-Siegler *et al.*, 2005; Meyer-Siegler, 2001).

En cuanto a su relación con las rutas de señalización, el MIF contrarresta la inducción de esteroides, los cuales inducen las fosfatasa MAPK (*mitogen-activated protein*), siendo este, por lo tanto, un paso esencial en la inhibición de la activación de MAPK (Bach *et al.*, 2009). Además de actuar sobre la ruta MAPK también lo hace con la PI3K, lo que lleva a un incremento en la secreción de los factores angiogénicos bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*) y VEGF (Fig. 40) (Babu *et al.*, 2012).

El factor de inhibición de macrófagos funciona como ligando de varios receptores, siendo el principal de ellos el CD74, un receptor de superficie celular que funciona conjuntamente con el receptor CD44. Ambos receptores son necesarios para el efecto antiapoptótico de MIF (Fig. 37). Este factor actúa, además, como ligando para los receptores funcionales CXCR4 y CXCR2, a los que se une compitiendo con otros ligandos. El MIF muestra funciones semejantes a las quimioquinas y actúa como regulador del reclutamiento celular inflamatorio (Bach *et al.*, 2009). Además, los receptores de quimioquinas acopladas a proteínas G podrían actuar como receptores del propio MIF. Asimismo, intracelularmente el MIF se une a proteínas citosólicas, especialmente a JAB/CSN5 (*JUN-activation domain-binding protein 1/COP9 signalosome subunit 5*) (Hussain *et al.*, 2013).

La unión de MIF al dominio extracelular de CD74 se vincula al transporte de péptidos para la carga de moléculas MHC de clase II. En cambio, la unión con el CD44 es necesaria para que den comienzo las rutas de señalización ERK1/2 y AKT. En el primer caso se producen reacciones de fosforilación que desencadenan efectos relacionados con procesos inflamatorios y la proliferación celular. En cuanto a la ruta de señalización AKT se produce la fosforilación de BAD y BAX, ambas involucradas en la apoptosis, otorgándoles a las células resistencia al proceso apoptótico (Fig. 37). Mediante la unión de MIF al complejo JAB1/CSN5 se mantiene activo el complejo SCF y así MIF tiene un efecto importante en la regulación del ciclo celular. Además, como se comentó anteriormente, en los últimos años se lo ha vinculado con la inhibición del p53, lo que lo relacionaría de forma directa con la supresión del punto de control G1 del ciclo celular y de este modo lo asociaría también con el desarrollo del cáncer (Babu *et al.*, 2012).

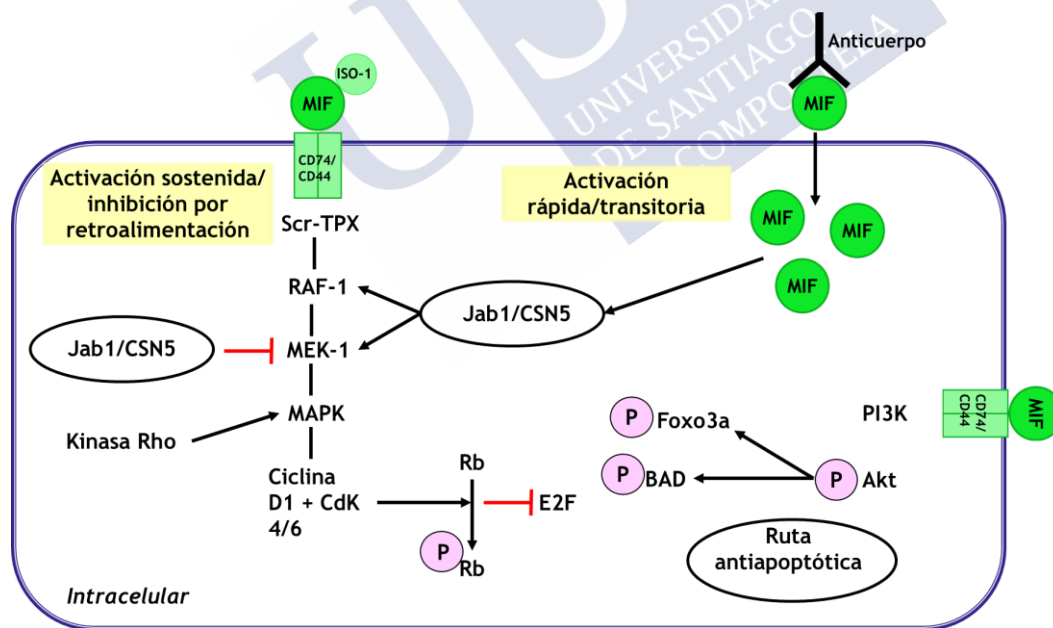


Figura 37. Mecanismos intracelulares del MIF. Por una parte, hay una reacción mediada por el complejo receptor CD74/CD44 que lleva a la activación de la ruta MAPK como parte de la ruta de activación sostenida. Esta ruta implicaría la fosforilación de moléculas relacionadas con la proliferación celular y por lo tanto con el cáncer. Por otra parte, el MIF puede iniciar una activación rápida transitoria mediante la interacción con factores de transcripción (Jab1/CSN5) o mediante la inducción de PI3K. Este último (PI3K) lleva a una ruta de señalización antiapoptótica. Las rutas activadas por el MIF se relacionan, además, con otras rutas a través de Jab1, MAPK, etc. Basada en Bach JP *et al.* (2009).

La sobreexpresión de MIF se ha asociado con diversas patologías inflamatorias, autoinmunes y tumorales. Es un factor expresado constitutivamente en el epitelio prostático. Tanto la síntesis de ARNm como la concentración de la proteína son mayores en tejido tumoral prostático (Y. Chen *et al.*, 2010; Meyer-Siegler *et al.*, 2005).

Gen *MIF* (rs2070767)

El gen *MIF* humano está localizado en el cromosoma 22, más concretamente en la posición 22q11.2 (Fig. 38). Este gen codifica un polipéptido de 12,5 kDa y una proteína de 115 aminoácidos (Babu *et al.*, 2012). Cuando el proceso de transcripción se produce en sentido inverso, los transcritos corresponden al MIF-AS1, es decir, a ARN anti-sentido de MIF (Fig. 39).

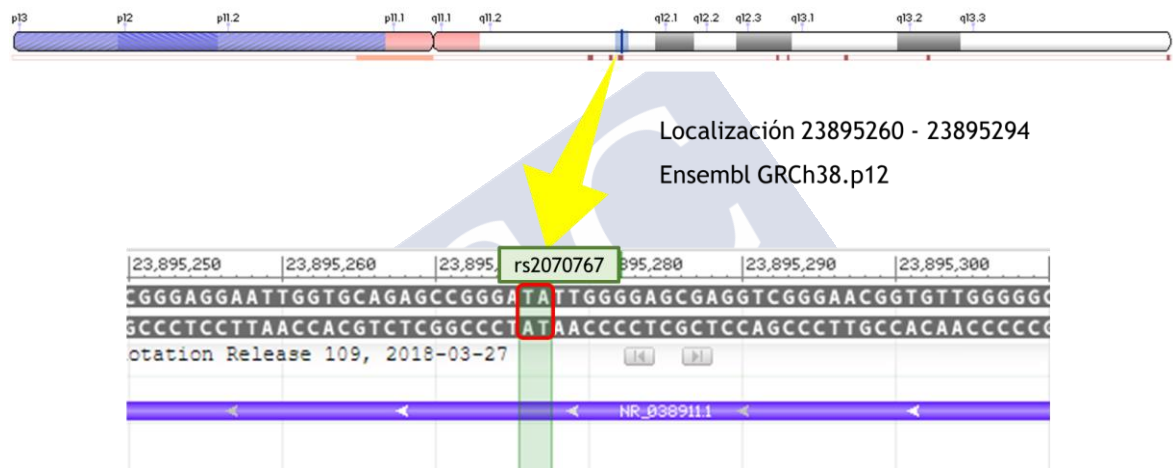


Figura 38. Localización en el cromosoma 22 del rs2070767 del gen *MIF*. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).



Figura 39. Representación gráfica de MIF (verde) y MIF-AS1 (azul) en el cromosoma. El sentido de la transcripción lo indican las flechas de cada gen. Fuente dbSNP (Sherry *et al.*, 2001).

El rs2070767 consiste en un cambio nucleotídico de C por T, siendo el alelo T el de menor frecuencia global y C el ancestral. Según dbSNP (NCBI, 2019a) así como en el *Ensembl* con el genoma humano de referencia más actualizado (GRCh38.p12) (Ensembl, 2019), este cambio nucleotídico se encuentra concretamente en la posición Chr22.23895276 (Fig. 38) y afecta a la expresión de dos formas diferentes en función del sentido de la transcripción. Por una parte, afecta a la secuencia del *MIF-AS1*, cuya transcripción produce lncRNA (ARN largo no codificante) dando lugar a una variante de un transcrito no codificante (*non coding transcript variant*). Por otra parte, en cuanto al *MIF*, provoca la aparición de un cambio nucleotídico

localizado *downstream* de la región 3' UTR. Sin embargo, existe cierta controversia sobre este polimorfismo, ya que al realizar la búsqueda en el navegador de fase 3 de *1000 Genomes* (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2019) aparece localizado en la posición Chr22:24237463 y es considerado una variante *missense*, es decir, el cambio de base conllevaría un cambio en la secuencia del aminoácido de un péptido. En este caso, el cambio de aminoácido sería de isoleucina (ile) por metionina (met). También se ha encontrado cierta variabilidad en cuanto a la posición del polimorfismo ya que en dbSNP se lo sitúa a 500 pares de bases de la región 3' UTR del MIF mientras que, en el trabajo de Gao et al. (2007) aparecería únicamente a 54 pares de bases.

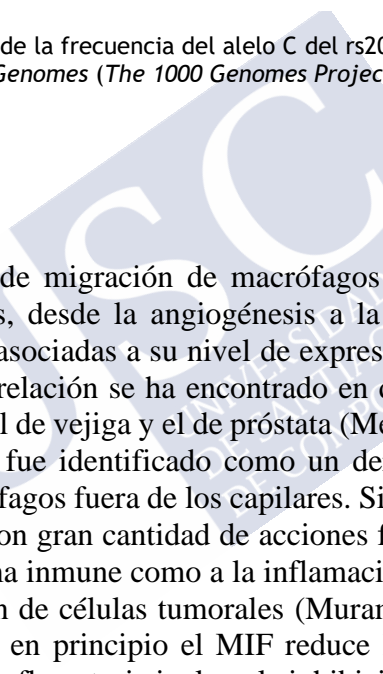
El ARN largo no codificante (lncRNA) es un tipo de molécula de ARN con más de 200 nucleótidos de tamaño, incapaz de codificar proteínas, pero que puede regular el desarrollo de varias enfermedades, entre las que destacan varios tipos de cáncer. Puede mediar en la progresión del desarrollo tumoral, así como en la metástasis gracias a su capacidad de regular la expresión genética a nivel transcripcional, postranscripcional y epigenético. En cáncer gástrico el lncRNA de *MIF-AS1* promueve la proliferación celular y reduce la apoptosis, actuando por lo tanto como un factor protumorigénico. En el cáncer de mama actúa como un oncogen, asociándose a peor pronóstico y a la metástasis (Ding, Wu, Yang, & Wu, 2019; Linhai Li et al., 2018).

El polimorfismo rs2070767 afectaría a la secuencia del lncRNA correspondiente al *MIF-AS1*. Como hemos comentado anteriormente, este tipo de transcritos están relacionados con múltiples procesos celulares y en ciertos casos se han relacionado con el desarrollo de cáncer y otras enfermedades. En este caso, el cambio en el lncRNA de *MIF-AS1* afectaría a la regulación de la expresión de *MIF*.

A pesar de que no existen estudios sobre el efecto funcional de este polimorfismo asociado al cambio en la región *downstream* 3' UTR del *MIF*, no podemos descartar que esta variante pueda afectar a la expresión de dicho gen, ya que estas regiones pueden funcionar como zonas de regulación génica (Herder et al., 2008).

Se han llevado a cabo tres estudios que analizan el rs2070767, estudiando su posible asociación con la diabetes y el daño pulmonar. En los tres casos los autores incluyen este polimorfismo en el gen *MIF*, pero en ningún momento lo relacionan con la transcripción de *MIF-AS1*. En el estudio de Swierczewsk et al. (2014) se indica que el polimorfismo está localizado en la región 3' UTR del gen *MIF* (posición 899), por lo que afectaría a la estabilidad del ARNm y a la localización subcelular de los transcritos (Świerczewska, Ostalska-Nowicka, Kempisty, Szczepankiewicz, & Nowicki, 2014). En el trabajo de Gao y colaboradores (2007) se indica que está en la posición 54 pb *downstream* del 3' UTR del *MIF*. Por último, Herder et al. (2008) sitúan el rs207767 en la región anexa a la 3' (*3'-flanking region*) y asocian el polimorfismo con los niveles de la proteína MIF circulante por su efecto regulador en la transcripción y en la estabilidad de los transcritos.

El alelo ancestral (C) del rs2070767 presenta en todas las poblaciones estudiadas frecuencias que suelen oscilar entre 0,7 y 0,8, como se refleja en la figura 40. La mayor frecuencia contabilizada se ha encontrado en la población Gujarati en Houston (0,864), mientras que la menor se ha estimado en Perú (0,594). En Europa aparecen las frecuencias más homogéneas en los distintos grupos de poblaciones estudiadas, siendo la de España la más alta (0,818).



Fuente 1000 Genomes (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015).

MIF y cáncer.

El factor de inhibición de migración de macrófagos se relaciona con el desarrollo de tumores de múltiples formas, desde la angiogénesis a la invasión tumoral y la metástasis, normalmente en actividades asociadas a su nivel de expresión y a las rutas de señalización en las que interviene. Así, esta relación se ha encontrado en diversos tipos de tumores, como el linfoma, el cáncer de colon, el de vejiga y el de próstata (Meyer-Siegler *et al.*, 2005; Muramaki *et al.*, 2006). Originalmente fue identificado como un derivado de células T que inhibía la migración aleatoria de macrófagos fuera de los capilares. Sin embargo, como ya se ha descrito, actualmente se la relaciona con gran cantidad de acciones fisiológicas vinculadas a patologías que se asocian tanto al sistema inmune como a la inflamación, jugando un papel esencial en la proliferación y diferenciación de células tumorales (Muramaki *et al.*, 2006). Como mediador de la respuesta inflamatoria, en principio el MIF reduce la inflamación aguda, así como la muerte celular. Esta función inflamatoria incluye la inhibición de la acción de glucocorticoides al contrarrestar la activación de NF- κ B (Bach *et al.*, 2009).

El MIF extracelular podría actuar sobre el desarrollo tumoral de acuerdo a varios mecanismos. Por una parte, activa rutas de señalización que promueven la proliferación celular así como su supervivencia y ejerce efectos antiapoptóticos mediante la inhibición del p53 y de las células NK, provocando acumulación de mutaciones de ADN que beneficiarían a la formación del tumor. Induce la angiogénesis y la vascularización tumoral mediante la regulación de metaloproteinasas y factores angiogénicos como VEGF e IL-8, además de regular los niveles de HIF-1 α (factor 1 α inductor de hipoxia) y mejorar la diferenciación de células endoteliales en vasos sanguíneos. Por último, puede mediar en la inflamación tumoral mediante la sustitución de señales de las células no tumorales por las de las células dañadas (Bach *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2013).

Este factor se expresa en la mayoría de los tipos de cáncer. Se ha encontrado sobreexpresión en cáncer esofágico de células escamosas, en cáncer de pulmón, glioblastoma, neuroblastoma, vejiga, colorrectal y próstata. En el cáncer de próstata se han encontrado elevados niveles de expresión, con elevada cantidad de MIF estrechamente asociada a un mayor grado de Gleason, así como al desarrollo metastásico. Se ha considerado que el nivel de expresión de MIF en las células tumorales está influido por el estrés celular y por determinados factores de crecimiento (Bach *et al.*, 2009). Como posible vínculo entre el nivel de expresión y el efecto cancerígeno del MIF se consideran ciertos puntos centrales de su mecanismo de actuación, como es su relación directa con la expresión de MMPs (pro-metastásicos), la activación del proto-oncogen *c-myc*, su receptor CD74 relacionado con la capacidad invasiva y su interacción con CXCR4 y CXCR3, que arrestan macrófagos de zonas tumorales malignas. Los macrófagos que se asocian al tumor favorecen la proliferación de las células tumorales, además de producir factores de crecimiento pro-angiogénicos. Por otra parte, MIF y TGF- β mantienen una relación inversamente proporcional, de tal forma que la inhibición de MIF lleva a la sobreexpresión de TGF- β (Babu *et al.*, 2012).

En muchos pacientes de cáncer de próstata se han observado niveles séricos y expresión de MIF elevados. Esto se ha relacionado con peor pronóstico y desarrollo de la enfermedad, de la misma forma que un bloqueo en su expresión o actividad se asocia con la parada del crecimiento celular en tumores (Hussain *et al.*, 2013). Estudios realizados con inhibición de MIF han confirmado el papel de este factor en la proliferación celular y con ello en el desarrollo de tumores (Y. Chen *et al.*, 2010). También se ha comprobado que los niveles elevados de MIF se asocian con el cáncer de próstata y no con pacientes con enfermedades prostáticas benignas (Muramaki *et al.*, 2006). Teniendo en cuenta la función esencialmente inflamatoria de MIF, se cree que su liberación puede ser inducida como respuesta a agentes antiinflamatorios (Meyer-Siegler, 2001).

Generalmente, se han asociado los niveles más elevados de expresión de MIF con el cáncer de próstata metastásico. Además, las células prostáticas que secretan MIF producen o contribuyen a la acumulación de macrófagos asociados al tumor, los cuales podrían influir en el comportamiento del tumor (Meyer-Siegler, 2001; Meyer-Siegler & Hudson, 1996). Por lo tanto, MIF se asocia con la progresión y el crecimiento del cáncer de próstata, de tal forma que su expresión genética está sobreexpresada en las células del cáncer durante la progresión tumoral y el desarrollo de independencia androgénica (Muramaki *et al.*, 2006). La concentración de MIF es mayor cuanto mayor es el estadio de Gleason y cuanto menor es la concentración de PSA (Bach *et al.*, 2009).

No se ha encontrado ningún estudio que relacione el rs2070767 y el desarrollo del cáncer, por lo que este sería el primer trabajo que tratará de estudiar la relación entre el desarrollo del cáncer de próstata y el rs2070767 del gen *MIF*.

1.4.1.6. Factor de Necrosis Tumoral - alfa (TNF- α).

Estructura molecular y función.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citoquina perteneciente a la superfamilia homónima, que consta de varios miembros, entre los que se incluyen TNF- β , CD40L (ligando

CD40), CD30L (ligando CD30), CD27L (ligando CD27), FasL (ligando Fas), TRAIL (ligando de TNF relacionado con la apoptosis), VEGF (Factor de crecimiento de endotelio vascular) y APRIL (ligando inductor de proliferación), entre otros. El TNF- α es un polipéptido de 17 kDa que fue descrito inicialmente como una sustancia sérica con capacidad de inducir la muerte celular en tumores (Royuela, Rodríguez-Berriguete, Fraile, & Paniagua, 2008).

Su forma precursora, la pro-TNF- α , es una proteína transmembrana que contiene la forma madura de TNF- α en su dominio extracelular. Así, la forma soluble es liberada mediante el corte de la precursora por la metaloproteínasa convertidora de TNF- α (*TNF- α -converting enzyme*, TACE). Actúa mediando respuestas inflamatorias y la inmunidad innata, además de sobre la remodelación celular, la apoptosis y la supervivencia celular (Kalliolias & Ivashkiv, 2016; Royuela *et al.*, 2008; Sabio & Davis, 2014). Debido a la multiplicidad de funciones, esta molécula también tiene un papel destacado en el desarrollo de varias enfermedades, tanto infecciosas como autoinmunes (Qidwai & Khan, 2011). El TNF- α es producido por numerosos tipos de células, principalmente pero no exclusivamente del sistema inmune, así como muchas clases de células tumorales (Royuela *et al.*, 2008).

Ejerce varios tipos de acciones, desde homeostáticas a patogénicas. Entre sus funciones homeostáticas se encuentra la defensa frente a patógenos, el desarrollo de órganos linfoides, la regeneración tisular, la inmunorregulación y la inhibición de la tumorigénesis. Entre sus efectos patógenos, por otra parte, está la inducción de la inflamación, la inhibición de células T reguladoras, la degeneración tisular, la tumorigénesis y la aterogénesis (Kalliolias & Ivashkiv, 2016).

Su producción está regulada de tal forma que previene los procesos inflamatorios persistentes. Esta regulación se da tanto a nivel transcripcional como postranscripcional. Las principales rutas activadas por el TNF- α incluyen caspasas, NF- κ B y MAPk. La MAPk ejerce un papel importante en la regulación postranscripcional de TNF- α , incluyendo el traslado del ARNm desde el núcleo, su estabilización a través del citoplasma y la transformación de pro-TNF- α a TNF soluble (Sabio & Davis, 2014).

El factor de necrosis tumoral α puede activar los tres grupos de MAPk, que incluyen las ERK (*extracellular signal-regulated kinases*), p38 MAP quinasas y JNK (*cJun NH₂-terminal kinases*). Las rutas MAPk comparten una estructura general común formada por tres proteínas quinasas que actúan secuencialmente. Una vez activadas, las MAPk transforman los estímulos externos en respuestas fisiológicas mediante la fosforilación de sustratos *downstream*, incluyendo factores de transcripción, proteínas citoesqueléticas, proteínas relacionadas con la traslación del ARNm y otras proteínas quinasas que contribuyen a la especificidad, diversidad y amplificación de la cascada MAPk (Sabio & Davis, 2014).

El TNF- α como ligando es reconocido por dos receptores, denominados generalmente TNFRI y TNFRII. El TNFRI es expresado ubicuamente por la mayoría de tipos celulares mientras que la expresión del segundo es inducida principalmente en células endoteliales e inmunes. El TNFRI es el principal mediador de las actividades del TNF- α , incluyendo la apoptosis, la proliferación de fibroblastos y la actividad antiviral, y reconoce ambas formas de la molécula TNF- α (soluble y transmembrana). La formación del complejo de receptor y ligando de TNF- α se da mediante la unión de homotrimeros de TNF y de TNFRI y II dando lugar al inicio de la señalización. Al unirse el TNF- α al TNFRII se produce su trimerización, dando lugar a la activación de al menos cuatro rutas de señalización: una ruta proapoptótica inducida por la interacción de la caspasa 8 con FADD (*Fas-associated death domain*), una plataforma antiapoptótica activada por la cIAP-1 (*cellular inhibitor of apoptosis protein-1*) y la interacción con el TRAF-2, una ruta de señalización mediada por TRAF-2 y JNK y una ruta inducida por NF- κ B (Fig. 41). La unión del complejo TNF- α /TNFRI a proteínas adaptadoras TRADD (*TNF receptor associated death domain*) activa al TRAF-2 (*TNF receptor associated factor 2*), lo que representa un punto de integración de señales pro y antiapoptóticas. La activación de TRAF-2 puede estimular dos rutas. Una iniciada por la interacción de TRAF-2 y NIK (*NF- κ B-inducing kinase*), que activa el NF- κ B, promoviendo factores de supervivencia como bcl-2 y bcl-XL. La otra ruta activa la cascada ASK 1 (*signal regulating kinase*) - MKK4 (*mitogen activated protein kinase kinase 4*) - JNK (*Jun N-terminal kinase*). Esta última quinasa fosforila la AP-1 dando lugar a la estimulación de la apoptosis (Fig. 42) (Kallioliás & Ivashkiv, 2016; Landskron, De La Fuente, Thuwajit, Thuwajit, & Hermoso, 2014; Qidwai & Khan, 2011; Royuela *et al.*, 2008).

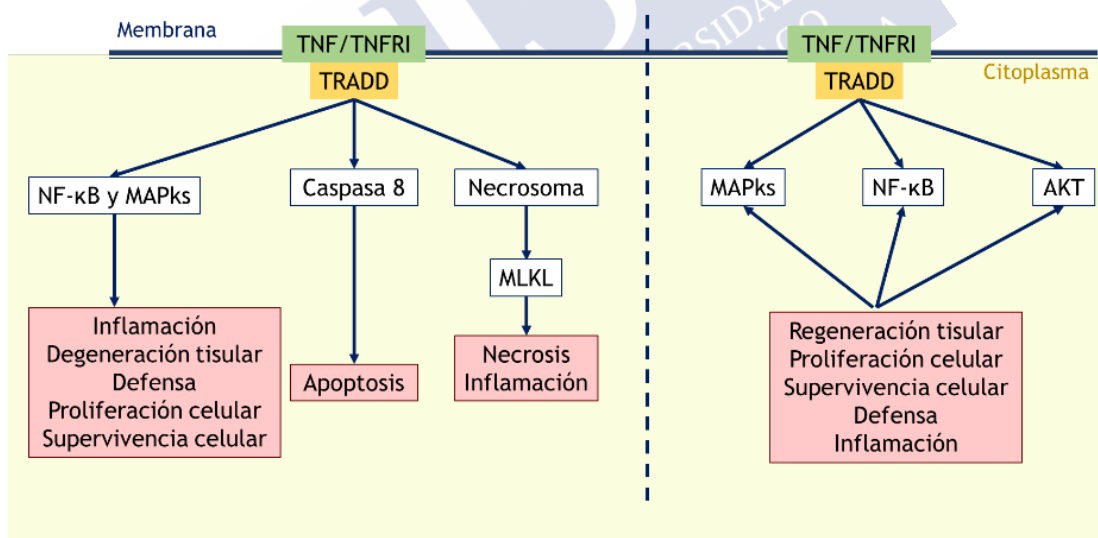


Figura 41. Esquema de señalización y bioactividad de TNF. Basado en Kallioliás & Ivashkiv, 2016.

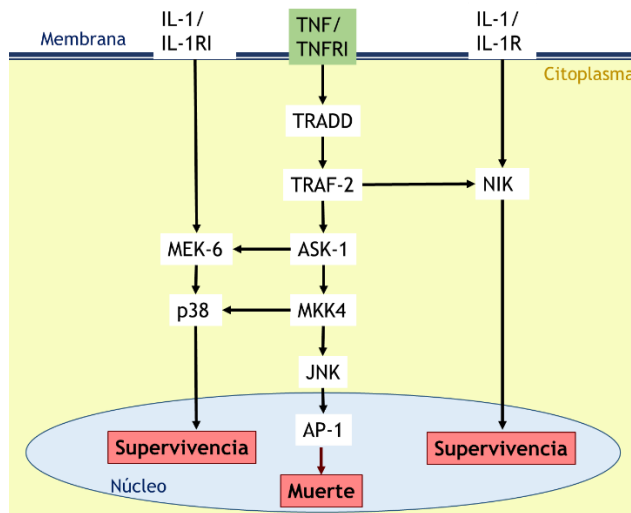


Figura 42. Ruta de señalización de TNF- α y su interacción con IL-1. Basado en Royuela *et al.*, 2008.

Resumiendo, el TNFR1, activado por ambas formas de TNF- α , tiene un dominio que recluta la proteína adaptadora TRADD. La unión del TNFR1 con cualquiera de ambas formas de TNF lleva a la formación de un complejo que activa el NF- κ B y las MAPks. Este complejo da lugar a procesos inflamatorios, degeneración tisular, supervivencia y proliferación celular y defensa contra patógenos. Otras opciones de señalización asociadas con la muerte celular también pueden ser activadas por este primer receptor TNFR1. En cambio, el TNFR2 es activado, principalmente, por el TNF transmembrana en interacciones entre células. Este receptor recluta el factor TRAF-2 mediante su dominio TRAF, dando lugar a la activación de NF- κ B, MAPks y AKT. El TNFR2 media principalmente las actividades homeostáticas, como la regeneración tisular, la proliferación celular y la supervivencia. Esta ruta también puede iniciar efectos inflamatorios y defensa contra patógenos (Fig. 41) (Kalliolias & Ivashkiv, 2016).

Durante la inflamación crónica ciertas citoquinas como el TNF- α y la IL-6 inducen la generación de radicales libres que dañan el ADN, causando mutaciones potenciales que pueden dar lugar al inicio del tumor. De la misma forma, la agresividad de los tumores también se vincula con las actividades de citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral y la IL-6 (Landskron *et al.*, 2014).

Gen TNF- α (rs1799964).

El gen *TNFA* humano está localizado en el cromosoma 6, más concretamente en la posición 6p21.33, en la zona correspondiente a la región del complejo mayor de histocompatibilidad de tipo III (MHC III) (Fig. 43) y está regulado principalmente a nivel transcripcional (NCBI, 2019b; Qidwai & Khan, 2011).

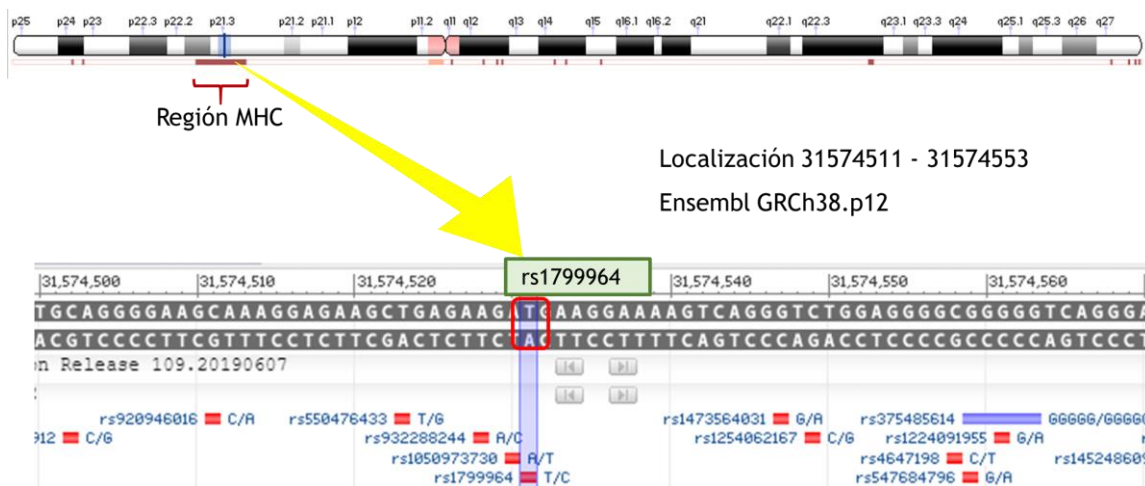


Figura 43. Localización del rs1799964 del gen *TNFA*. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).

El polimorfismo rs1799964 consiste en un cambio nucleotídico de C por T en la región promotora del gen, específicamente localizado en la posición 31574531. Se encuentra en la región reguladora ya que es una variante *upstream* (*2kb upstream variant*), por lo que puede alterar el nivel de expresión del gen y por lo tanto afectar a los efectos producidos por el TNF, incluida su influencia en el desarrollo de enfermedades (Qidwai & Khan, 2011; Sherry *et al.*, 2001).

Se han estudiado diversos SNPs de la región promotora del *TNFA* en relación al desarrollo del cáncer, ya que este tipo de variaciones en la secuencia de ADN modifican la regulación del gen a nivel transcripcional. Estas modificaciones en la regulación afectan a su vez al desarrollo de enfermedades complejas como el cáncer. Así, la presencia de polimorfismos en la región reguladora afecta a la interacción entre factores de transcripción y los sitios de unión al factor (TFBS, *transcription factor-binding site*), lo que influye en la expresión genética y en la susceptibilidad a determinadas patologías (Qidwai & Khan, 2011).

Este SNP aparece con frecuencias minoritarias para el alelo ancestral (C), tanto a nivel global (0,219) como en las distintas poblaciones mostradas en la figura 44. Los valores más elevados se han encontrado en el Sur de Asia, siendo la población de Bangladesh la que presenta una mayor frecuencia del alelo C (0,436). En Europa las frecuencias obtenidas son menores que en el Sur de Asia, pero más homogéneas, oscilando entre 0,178 y 0,238 en España e Italia respectivamente (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

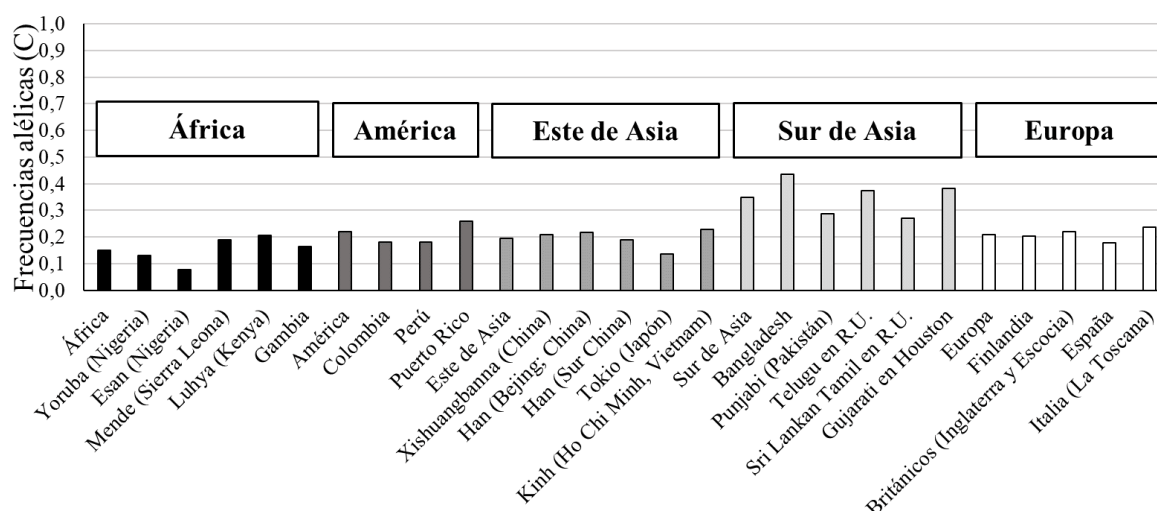


Figura 44. Representación gráfica de la frecuencia del alelo C del rs1799964 en distintas poblaciones humanas. Fuente 1000 Genomes (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015).

TNF- α y cáncer.

Los procesos infecciosos y la inflamación crónica son puntos de inicio de varios tipos de cáncer, ya que producen moléculas bioactivas que incluyen citoquinas, factores de crecimiento, quimioquinas, señales de supervivencia celular, factores pro-angiogénicos y enzimas que modifican la matriz extracelular. Durante la inflamación crónica las citoquinas pueden inducir la transformación celular, condicionar el equilibrio entre citoquinas pro y antiinflamatorias, variar su concentración y la expresión de receptores, dando lugar al desarrollo tumoral (Landskron *et al.*, 2014). Las células tumorales producen moléculas, como las quimioquinas, que actúan como factores de crecimiento o supervivencia, regulan la angiogénesis, determinan el desarrollo metastásico y controlan la infiltración leucocitaria, de modo que interrumpen las respuestas inmunes antitumorales. En varios estudios se ha observado que el epitelio prostático normal produce cantidades relativamente elevadas de quimioquinas angiostáticas y bajos niveles de quimioquinas angiogénicas (Tindall, Hayes, & Petersen, 2010).

De entre las citoquinas que actúan como factores de crecimiento destaca el TNF- α . La expresión y acción de TNF- α y sus receptores se han estudiado en muchos tumores, tales como esofágico, folicular de tiroides, ovárico, mama y vejiga. En varios estudios se ha observado que el silenciamiento de este factor lleva al descenso de la proliferación e invasión del cáncer de vejiga. En otro estudio, con cáncer de ovario, se ha visto que el TNF- α estimula la secreción de otras citoquinas con efectos protumorigénicos, por lo que promovería el desarrollo del tumor de forma indirecta (Landskron *et al.*, 2014). Muchos estudios han mostrado que el TNF- α está relacionado con el crecimiento celular del tumor y las interacciones del estroma, que facilitan la invasión tumoral y la metástasis. El TNF- α también puede proporcionar una señal de supervivencia para las células del cáncer y, por lo tanto, se lo considera un factor de “promoción” tumoral (Royuela *et al.*, 2008).

Los resultados obtenidos al estudiar los niveles de TNF- α en varias patologías prostáticas, incluido el PCA, son variados y poco concluyentes. Sin embargo, sí se ha asociado el nivel

elevado de TNF- α sérico con el grado de PCa, peor pronóstico y resistencia al tratamiento. Esto parece deberse al incremento de proliferación celular y apoptosis, mediados por TNF- α , que a su vez llevarían a un desequilibrio del ciclo celular, todas ellas características vinculadas a pacientes de PCa (Royuela *et al.*, 2008).

Se ha comprobado que la reducción en la producción de TNF- α induce el desarrollo del tumor mediante la producción de ROS (*reactive oxygen species*) y RNS (*reactive nitrogen species*). Estas moléculas pueden inducir daño en el ADN y así facilitar la tumorigénesis. Por otra parte, como ya se ha comentado anteriormente, la angiogénesis es importante en el desarrollo del cáncer ya que la formación de nuevos vasos sanguíneos aporta nutrientes y oxígeno a las células tumorales. Parece que el TNF- α podría ejercer un doble papel sobre la angiogénesis, actuando como angiostático cuando está presente en grandes cantidades y como angiogénico en pequeños niveles. Así, se ha descrito que bajos niveles de TNF- α incrementan el crecimiento tumoral e inducen la angiogénesis de diversos tumores. Por lo tanto, el TNF- α puede inducir la necrosis tumoral, afectando a la vascularización tumoral e iniciando la apoptosis, pero paradójicamente también puede promover la proliferación celular (Landskron *et al.*, 2014; Royuela *et al.*, 2008).

Por lo tanto, el TNF tiene la capacidad de ejercer efectos variados sobre el desarrollo del cáncer, induciendo la carcinogénesis y promoviendo la progresión de tumores ya establecidos. Una vez está desarrollado el tumor, el TNF puede promover la supervivencia y proliferación de células malignas, directamente activando el NF- κ B en células tumorales o indirectamente induciendo la producción de citoquinas protumorales como IL-6. Además, el TNF contribuye a la fuga de células tumorales mediante la promoción de la capacidad inmunosupresora de las MDSCs (*myeloid-derived suppressor cells*) y de las células T reguladoras. Finalmente, el TNF facilita la metástasis tumoral mediante la transición epitelial-mesenquimal e induciendo la síntesis de MMPs (Kallioli & Ivashkiv, 2016).

Se han llevado a cabo muchos estudios de caso-control con polimorfismos de la región promotora de TNF para analizar su posible relación con el desarrollo de múltiples enfermedades, incluido el cáncer (Qidwai & Khan, 2011). El polimorfismo rs1799964 se ha asociado con diversas patologías, en muchos casos asociadas a su vez con el cáncer. Se han encontrado más de 20 estudios de caso-control que analizan la posible relación entre el SNP y distintos tipos de cáncer, entre los que se encuentra el de próstata (Tabla VII, Anexo 1). Únicamente en ocho artículos se observó asociación estadísticamente significativa, pero sus resultados fueron variados ya que dos de ellos señalaban al alelo T como el de riesgo, uno al genotipo heterocigoto y cinco al genotipo CC. Estos estudios estadísticamente significativos incluyen el cáncer de ovario, mama, gástrico, oral, pancreático, cervical y próstata.

1.4.2. PROTEÍNAS DE REPARACIÓN DE ADN.

1.4.2.1. XRCC1 (*X-ray repair cross complementing group 1*).

Estructura molecular y función.

Existen diferentes procesos que provocan daños en el ADN. Estos daños van a ser reparados con mayor o menor eficacia por mecanismos de reparación del ADN, que en

múltiples estudios se relaciona con el riesgo de padecer diversos tipos de cáncer, entre los que se encuentra el cáncer de próstata (Abdel-Rahman *et al.*, 2000; Geng, Zhang, Zhu, Wang, & Chen, 2009; Goode, Ulrich, & Potter, 2002; Ritchey *et al.*, 2005; Sorour, Talaat, Youssif, & Atta, 2013; Takanami, Nakamura, Kubota, & Horiuchi, 2005; J. Zhang, Dhakal, Lang, & Kadlubar, 2010). Una capacidad reducida de reparación de ADN podría producir inestabilidad genética y carcinogénesis (Goode *et al.*, 2002). En principio la capacidad de reparación del ADN está, hasta cierto punto, determinada genéticamente. Se han llevado a cabo estudios que permiten determinar las principales rutas de reparación, así como la variabilidad interpoblacional existente en la relación entre genes implicados en dichos procesos y el posible desarrollo de cáncer (Abdel-Rahman & El-Zein, 2000; Goode *et al.*, 2002; J. Zhang, Dhakai, Greene, Lang, & Kadlubar, 2010).

El XRCC1 (*X-ray repair cross complementing group 1*), participa en la ruta de reparación BER (*Base Excision Repair*), una de las rutas de reparación de ADN más importante (Fig. 45). Su función en dicha ruta consiste en actuar como apoyo y estimulador para otras enzimas implicadas en el proceso. La ruta BER comienza con la eliminación de la lesión mediante una enzima ADN-glucosilasa específica, generándose un sitio abásico, llamado AP (apúrico o apirimidínico). Posteriormente, una enzima AP endonucleasa (APE) rompe la cadena el enlace 5' fosfodiéster en el sitio abásico. A continuación, la ADN-polimerasa-III y otras proteínas, entre las que se encuentra la proteína XRCC1, añaden el nuevo nucleótido al extremo 3'-OH y cortan la base y el residuo de fosfato libres. Finalmente, el complejo ADN-ligasa-III/XRCC1 sella la nueva unión. En apariencia la proteína XRCC1 no desempeña una función enzimática, pero sí como proteína soporte, uniéndose e interactuando con las enzimas citadas anteriormente y parece contribuir a la eficiencia del proceso (Biológicas & Vieira, 2010; Brem & Hall, 2005). Por lo tanto, se supone que la proteína XRCC1 sería una proteína soporte, que reclutaría y posicionaría otros componentes durante la BER e interactuaría con otras enzimas de esta ruta, para que sus formas complejas reparen los lugares AP (Kubota *et al.*, 1996).

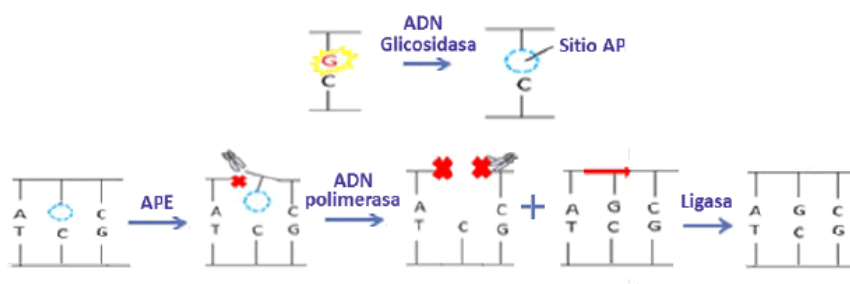


Figura 45. Pasos de la ruta BER. Basado en Norjmaa, Tulgaa, & Saitoh, 2016.

En mamíferos la ruta BER se divide en dos en función del número de nucleótidos sintetizados en el área de escisión. La primera es la ruta BER de nucleótido simple, mientras que la segunda es la de área larga. La ADN polimerasa beta ($\text{Pol}\beta$) actúa en ambas rutas BER, tanto la de nucleótido simple como la de área larga. En la ruta de área larga la $\text{pol}\beta$ juega un papel esencial ya que produce la síntesis de desplazamiento de hebra y controla el tamaño de la sección eliminada (Dianov, Prasad, Wilson, & Bohr, 1999).

La proteína XRCC1 humana tiene tres dominios interactivos y una señal de localización nuclear, además de un sitio de fosforilación para Ck2. El dominio N-terminal (NTD) es en el que se une la $\text{Pol}\beta$, así como la zona del ADN que se va a reparar. Dos de sus dominios son de

tipo BRCT, que pueden discriminar el grado de fosforilación de las proteínas. Estos dominios también están presentes en otras proteínas como BRCA1. Solo es necesaria una pequeña parte del dominio BRCT para la interacción de la XRCC1 y la ADN-ligasa III, sin embargo, esta pequeña zona carece de características (como hélices alfa) presentes en la región equivalente en otras proteínas (Caldecott, 2003; Ladiges, 2006).

Gen *XRCC1*.

El gen *XRCCI* se encuentra en el cromosoma 19, concretamente en la posición 19q13.31 y contiene 17 exones, que ocupan una longitud de 32 kb. El rs25487 consiste en una transición de G por A en el codón 399 del exón 10. Esta variación es de tipo *missense*, lo cual implica que se produce un cambio de aminoácido, en este caso de Arginina (alelo G) por Glutamina (alelo A) (Arg399Gln) (Fig. 46).

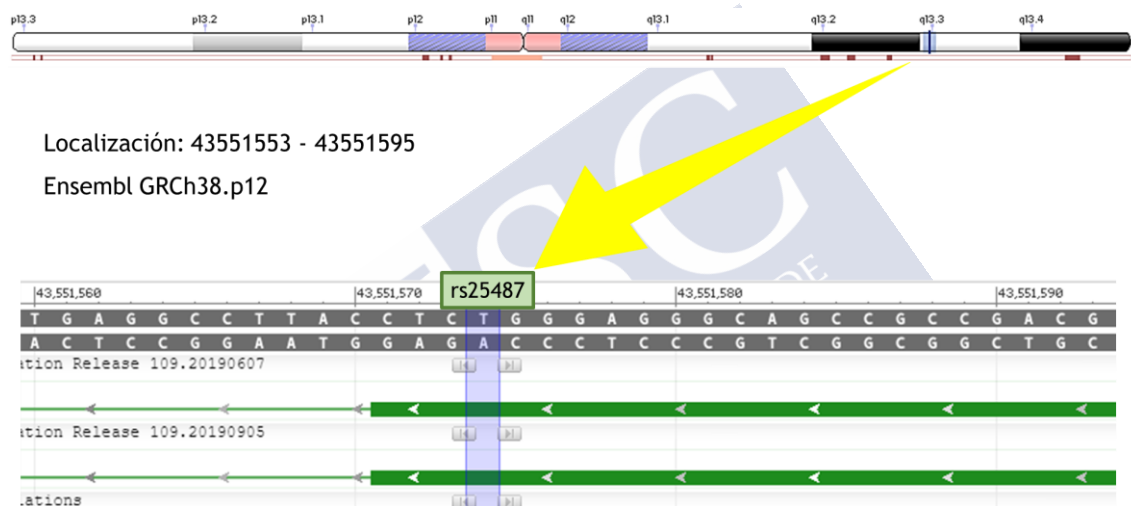


Figura 46. Localización del rs25487 del gen *XRCC1*. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).

Los datos obtenidos a raíz de trabajos relacionados con el polimorfismo Arg399Gln permiten suponer que este cambio de aminoácido puede alterar el fenotipo de la proteína XRCC1, alterando su capacidad de reparación. Es decir, este polimorfismo altera la función normal de la proteína, lo que se asociaría con una deficiencia en la capacidad de reparación de ADN. Este tipo de polimorfismos podrían afectar concretamente a los procesos de reparación por escisión y recombinación. En lo que respecta a la asociación del SNP con la capacidad de reparación de ADN, generalmente se ha asociado el alelo 399Gln con una reducción de dicha capacidad (Abdel-Rahman & El-Zein, 2000; Abdel-Rahman *et al.*, 2000; Ladiges, 2006).

La frecuencia del alelo ancestral (G) es mayoritaria en todos los grandes grupos poblacionales (Fig. 47). En África se observan las frecuencias mayores (0,890) mientras que las menores son las del continente europeo (0,634). En la población española estudiada se observa la menor frecuencia de las europeas (0,579) y, por lo tanto, de todas las contabilizadas en la base de datos de 1000 genomas (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

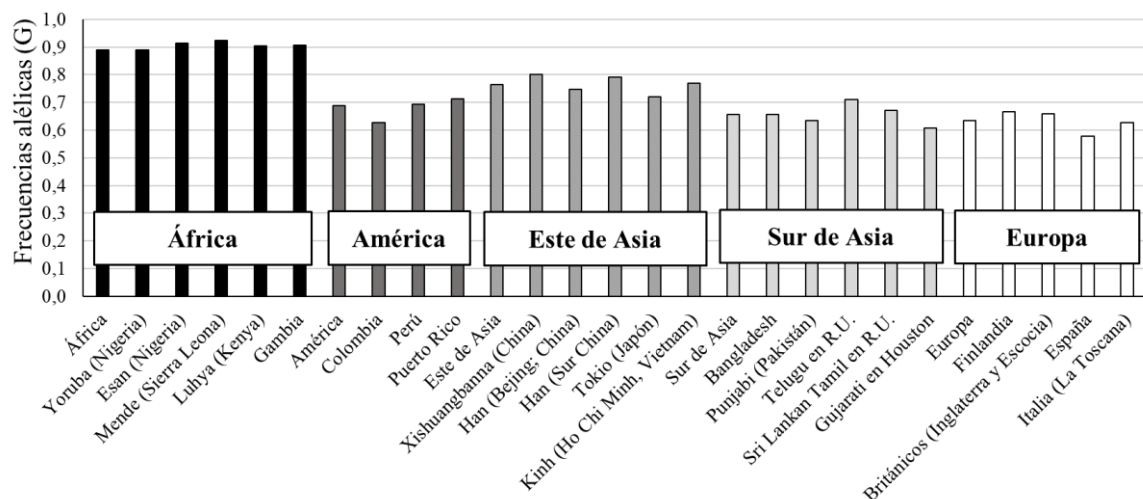


Figura 47. Representación gráfica de la frecuencia del alelo G rs25487 en distintas poblaciones humanas. Fuente 1000 Genomes (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015).

XRCC1 y cáncer.

En diversos estudios se ha sugerido que variaciones en ciertos polimorfismos del gen *XRCC1* tienen influencia sobre distintos tipos de cáncer, entre los que se han descrito el colorrectal, mama, próstata o páncreas. Además, también se han tenido en cuenta otras variables no genéticas, como el tabaquismo o la exposición a la radiación como posibles causas del aumento de riesgo de desarrollar la enfermedad (Abdel-Rahman & El-Zein, 2000; Duell, Holly, Bracci, Wiencke, & Kelsey, 2002; Duell *et al.*, 2001). Así mismo, se han relacionado los polimorfismos de genes de reparación de ADN con el efecto de mutágenos ambientales sobre respuestas genotóxicas. Por eso, la capacidad de reparación de ADN constituye un factor de riesgo significativo para el cáncer inducido por el tabaquismo (Abdel-Rahman & El-Zein, 2000). Los resultados obtenidos en los distintos estudios no son concluyentes, lo que hace necesario llevar a cabo nuevos trabajos para asegurar si existe una variabilidad poblacional en la distribución alélica de los polimorfismos del *XRCC1*, así como en lo que se refiere a la susceptibilidad del cáncer en función de las variantes alélicas y su relación con la función de la proteína XRCC1 (Abdel-Rahman *et al.*, 2000; Duell *et al.*, 2002).

El polimorfismo rs25487 produce un cambio de aminoácido que puede alterar la función de la proteína. Se ha asociado el alelo 399Gln con niveles elevados de aditivos de aflatoxina-B1-ADN en tejido placentar, aditivos ADN polifenoles en células mononucleares, intercambio de cromatina hermana en linfocitos y mutaciones somáticas de glicoforina A en eritrocitos. Los resultados observados asocian la variante alélica 399Gln con una reducida capacidad de reparación de daño del ADN y por lo tanto a un aumento en la predisposición a desarrollar PCa (J. Zhang, Dhakal, *et al.*, 2010).

En varios estudios no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el rs25487 y el desarrollo del PCa (Hamano, Matsui, Ohtake, Nakata, & Suzuki, 2008; Hirata *et al.*, 2007; Kuasne *et al.*, 2011; Mittal, Mandal, & Gangwar, 2012; Rybicki *et al.*, 2004; Sorour *et al.*, 2013; Van Gils, Bostick, Stern, & Taylor, 2002). Por el contrario, en el estudio de Ritchey y colaboradores (2005) se encontró asociación estadísticamente significativa entre el riesgo a

desarrollar PCa y el genotipo homocigoto GlnGln, mientras que en el de Xu y su equipo (2007) se asoció el genotipo heterocigoto con un incremento significativo del riesgo a desarrollar PCa.

1.4.2.2. ERCC4 (*excision repair cross-complementing group 4*).

Estructura molecular y función.

Esta subunidad de endonucleasa catalítica participa en diversas rutas de reparación de ADN, siendo especialmente importante en la ruta NER (*nucleotide excision repair*). En la actualidad además de este nombre también se la conoce como XPF (*xeroderma pigmentosum group F-complementing protein*), ya que la deficiencia de esta molécula promueve el desarrollo de la patología denominada xeroderma pigmentoso (Manandhar, Boulware, & Wood, 2015). La ERCC4 o XPF actúa asociada a la ERCC1 formando un complejo, normalmente denominado ERCC1-XPF, que tiene la capacidad de localizar y cortar la región de la cadena de ADN donde se encuentra el daño. Debido a su actividad reconociendo el sitio del ADN dañado su función no se limita únicamente a la ruta NER sino que también participa en la reparación por recombinación de ICLs (*interstrand cross linking*), así como en la reparación de roturas de doble cadena (DSB, *double strand break*) (Chu et al., 2013). En los casos en los que las lesiones de ADN no son reparadas, éstas interfieren con procesos básicos y esenciales como la replicación y transcripción del ADN, así como la división celular (Araújo & Wood, 1999).

La ruta NER es uno de los sistemas de reparación de ADN más versátiles, que puede reparar un amplio rango de lesiones y en el que participan entre 30 y 40 genes expresados en tejidos proliferativos como la próstata (Hooker, Bonilla, Akereyeni, Ahaghotu, & Kittles, 2008). Este proceso de reparación se produce sobre alteraciones largas, es decir, aquellas que distorsionan áreas amplias de la cadena del ADN (entre 2 y 30 bases). Estas lesiones incluyen daños producidos por radiación ultravioleta (UV) y por compuestos químicos como carcinógenos externos policíclicos o mutágenos químicos como el cisplatino o el tabaco (Agalliu et al., 2010; Araújo & Wood, 1999; Chu et al., 2013; Fagbemi, Orelli, & Schärer, 2011). El mecanismo molecular de la ruta NER tiene dos pasos principales. El primero es el reconocimiento e incisión-escisión de la cadena de ADN donde se encuentra la lesión. El segundo consiste en la síntesis replicativa del ADN, restaurando la cadena hasta obtener una semejante a la original (Fig. 48) (Araújo & Wood, 1999).

Al formarse el complejo XPF-ERCC1 se produce el corte de la región dañada en el extremo 5'. Posteriormente las polimerasas de ADN reparan dicha sección junto con otros factores, iniciando la síntesis de un parche con la secuencia correcta copiando la cadena complementaria. Entonces la XPG produce un corte en el extremo 3' y las ADN ligasas unen la porción de la cadena reparada con la hebra hasta terminar con una doble hélice de ADN perfectamente funcional. La XPG y el complejo XPF-ERCC1 forman un complejo que separa las dos cadenas en la zona del daño, de tal modo que el XPF-ERCC1 se encargará del corte en el extremo 5' (Fagbemi et al., 2011; Manandhar et al., 2015).

El complejo XPF-ERCC1 también procesa las colas 3' de ADN intermedias que se generan en algunas rutas de reparación de daño de doble cadena (DSB). En este tipo de reparación bicatenaria, el XPF-ERCC1 elimina las terminaciones 3' no homólogas de algunas roturas bicatenarias durante el proceso final de unión (*end-joining*). Su participación en la reparación

de las DSB se da tanto en la recombinación homóloga (HR) como en la no homóloga (NHEJ, *non-homologous DNA end-joining*) siempre que la sección final contenga zonas de cadena sencilla en el extremo 3'. Además, participa en la reparación de los enlaces cruzados entre cadenas de ADN (*Interstrand crosslink*, ICL). El XPF-ERCC1 se une a la SLX4 con la que identifica la zona entrecruzada y corta una de las cadenas. A partir de ese punto se replica la secuencia sin entrecruzamiento y se corta y copia la sección correspondiente de la cadena complementaria. Después de la primera escisión la reparación se lleva a cabo mediante la ruta NER y la recombinación homóloga (Dehé & Gaillard, 2017; Fagbemi *et al.*, 2011; Gregg, Robinson, & Niedernhofer, 2011; Manandhar *et al.*, 2015).

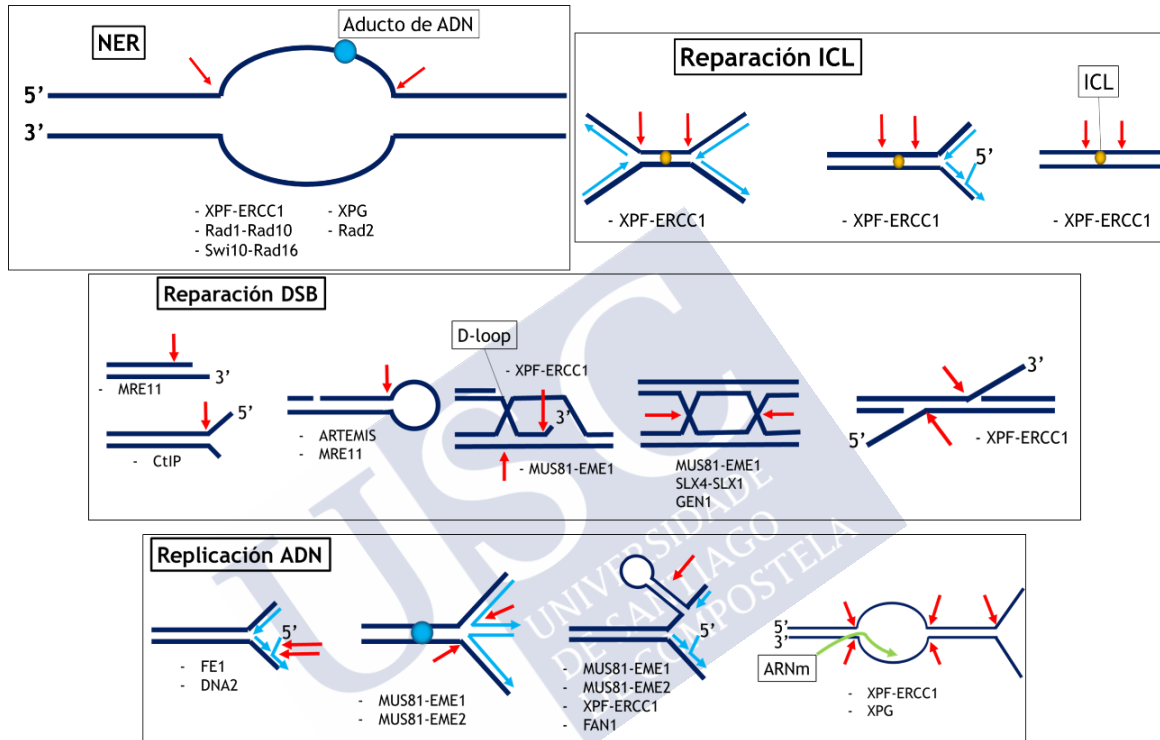


Figura 48. Resumen de las principales rutas en las que participa el complejo formado por XPF y ERCC1. Las flechas rojas indican cortes de ADN. Las azules indican síntesis de ADN y las verdes síntesis de ARN. Basada en Dehé & Gaillard, 2017.

Se ha observado que en la ruta BER (*base excision repair*) esta nucleasa también puede eliminar un 3'-fosfoglicolato, producido por la actividad de ROS. Por ello se considera que también tiene cierta participación en esta ruta de reparación frente a daños producidos por especies reactivas de oxígeno. Por último, también se ha observado un vínculo entre este complejo y el mantenimiento de los telómeros, relacionándolo por lo tanto con la regulación de su longitud (Manandhar *et al.*, 2015).

Las variaciones genéticas en los genes implicados en las vías de reparación del ADN, como el *ERCC4*, pueden afectar a la capacidad de las enzimas de reparación de ADN codificadas para eliminar eficazmente compuestos o lesiones de ADN. Esto puede aumentar el riesgo de desarrollar cáncer (Agalliu *et al.*, 2010).

Gen ERCC4 (rs744154).

El gen ERCC4 está localizado en el cromosoma 16, en la posición 16p13.1 – 16p13.2. Incluye 11 exones que ocupan aproximadamente 28,2 kb. El rs744154 consiste en un cambio de G por C en un intrón del gen ERCC4 humano y está localizado concretamente en la posición 13921224 de dicho cromosoma (Fig. 49) (Manandhar *et al.*, 2015; Sherry *et al.*, 2001).

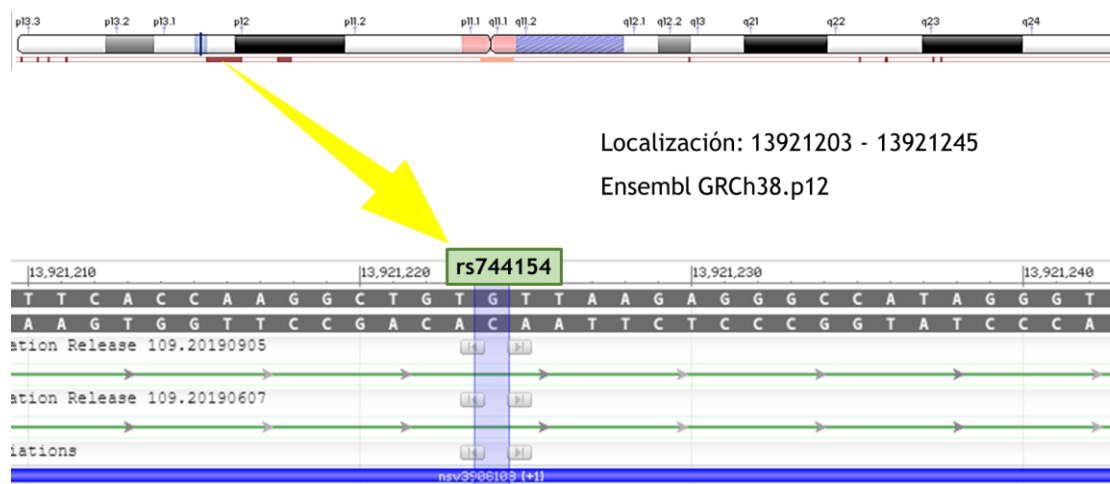


Figura 49. Localización del rs744154 del gen ERCC4. Fuente NCBI (Sherry *et al.*, 2001).

El alelo ancestral es el mayoritario en los grandes grupos de poblaciones humanas, siempre con frecuencia superior a 0,6 (Fig. 50). Al igual que sucedía con el marcador anterior, en este caso la frecuencia menor también se encuentra en la muestra española, con un valor de 0,640. Sin embargo, en este caso en la muestra de Japón se han obtenido resultados muy cercanos, con una frecuencia de 0,663. El mayor valor se observa en Perú (0,935), seguido de los Yoruba (0,907) (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

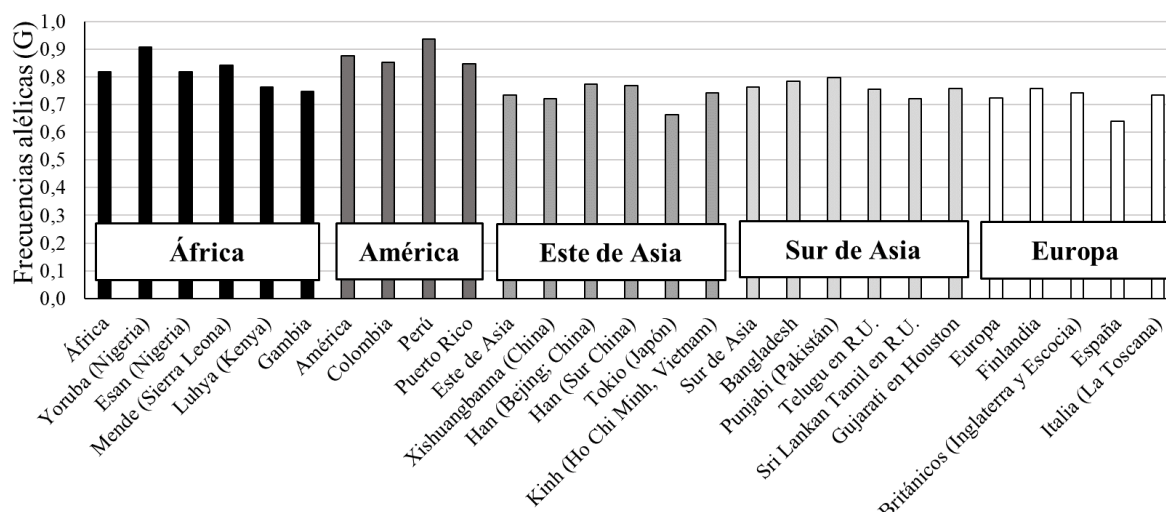


Figura 50. Representación gráfica de la frecuencia del alelo G del rs744154 en distintas poblaciones humanas. Fuente 1000 Genomes (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

ERCC4 y cáncer.

El ERCC4 se ha estudiado vinculado al posible riesgo a desarrollar diversos tipos de cáncer debido a su papel en múltiples procesos de reparación del ADN. Además, por su actividad central en la ruta NER y la relación entre esta ruta de reparación y ciertos tratamientos contra el cáncer, también se ha estudiado el posible efecto de variaciones genéticas del ERCC4 respecto al tratamiento del cáncer, incluido el de próstata. Las variaciones genéticas en los genes que participan en las rutas de reparación de ADN pueden afectar a la eficacia de dichas vías, de tal modo que se acumulen daños y mutaciones que pueden desembocar en el desarrollo de cáncer (Agalliu *et al.*, 2010; Ciccia, McDonald, & West, 2008).

El rs744154 del gen ERCC4 se ha estudiado en relación a varios tipos de cáncer, como colorrectal, mama, pulmón, próstata y cabeza y cuello. Al llevar a cabo estudios con otras especies se ha observado que la región donde se encuentra este SNP está muy conservada, por lo que este polimorfismo podría tener un importante papel funcional, dando especial relevancia a los estudios anteriormente citados (Milne *et al.*, 2006; T.-Y. Shi *et al.*, 2012; J.-S. Zhang *et al.*, 2013).

Chu y colaboradores (2013) analizaron la posible asociación entre el rs744154 y el desarrollo de cáncer gástrico. Los resultados obtenidos muestran un descenso significativo del riesgo para la variante genotípica C. Dicha reducción del riesgo es menor en los individuos fumadores, respecto a los no fumadores. Gaudet *et al.* (2009) y Zhang *et al.* (2013) no encontraron asociación entre el SNP y el desarrollo del cáncer de mama ni gástrico, respectivamente. Sin embargo, en el segundo caso se detecta asociación estadísticamente significativa al estratificar la muestra en función de la infección por *H. pilory*. El trabajo realizado por el equipo de Milne (2006) está realizado en dos etapas, con un primer paso en España y el segundo con población finlandesa y sus resultados permiten asumir una asociación entre el rs744154 y el cáncer de mama. En el trabajo llevado a cabo en cáncer de vejiga, realizado por Wang M *et al.* (2010), a diferencia de los resultados obtenidos en el trabajo de Chu y colaboradores, la reducción del riesgo a desarrollar cáncer se asocia en este caso al alelo G. Wyss y colaboradores (2013) realizaron su estudio en dos poblaciones con pacientes de cáncer de cabeza y cuello, pero no encontraron asociación estadísticamente significativa en ninguno de los dos grupos. En cambio, al llevar a cabo el cálculo de OR en las muestras estratificadas por tabaquismo sí se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en los que se reduce el riesgo asociado al alelo C al incrementarse el consumo tabáquico.

1.5. Objetivos.

- En este trabajo se va a analizar el polimorfismo, en una muestra de la población gallega, de marcadores localizados en genes que están implicados, en su mayoría, en diversas etapas del proceso inflamatorio, tanto inhibiendo este proceso como promoviéndolo. Adicionalmente, dado que el proceso inflamatorio afecta a la integridad del ADN, se han incluido dos marcadores de genes implicados en rutas de reparación del ADN.

- A partir de los resultados de este análisis, se realizará un estudio de asociación tipo caso-control para tratar de encontrar una relación entre el desarrollo del cáncer de próstata y los marcadores genético moleculares analizados.

- Además de la asociación entre el componente genético y el desarrollo de PCa se incluirán en el análisis otras variables no genéticas que pueden afectar al desarrollo de la enfermedad. Dicho análisis se realizará estratificando la muestra en función de la edad, el consumo tabáquico y el índice de masa corporal, ya que estas tres variables se han descrito como factores de riesgo potenciales con una estrecha relación con la inflamación y el daño del ADN, así como con el origen del cáncer. En este caso, se trata de descubrir si existe un impacto diferencial del genotipo sobre el desarrollo de PCa en diferentes grupos de la muestra relacionado con las variables anteriormente mencionadas.

- Por otra parte, también se llevará a cabo un análisis de asociación entre estos marcadores genéticos y los niveles de PSA. El análisis de esta molécula se utiliza en el primer paso del diagnóstico de PCa, ya que sus niveles parecen claramente relacionados con el desarrollo de esta enfermedad y de otros procesos inflamatorios de la próstata. Por lo tanto, una evaluación de la asociación entre marcadores genéticos relacionados con la inflamación y el PSA puede resultar de utilidad a la hora de interpretar los análisis de relación entre dichos marcadores y el desarrollo de cáncer de próstata.



2. MATERIAL Y MÉTODOS.



El trabajo se ha desarrollado mediante un modelo de estudio de caso-control, en el que se incluyen dos grupos muestrales. El primero de ellos, los casos, son un grupo de individuos que presentan la enfermedad objeto de este estudio, en este caso pacientes con cáncer de próstata diagnosticado. El segundo grupo, denominado grupo control, está constituido por individuos con características comparables al de los casos (rango de edad, origen geográfico) pero que no presentan la enfermedad.

Este tipo de estudio de caso-control es observacional retrospectivo y se lleva a cabo como alternativa a los estudios prospectivos. A partir de la presencia de la enfermedad se buscan las causas que explicarían su aparición. Los estudios caso-control son extremadamente eficientes ya que aumentan la proporción entre casos y controles respecto a la existente en la población de origen. Esto permite que, incluso analizando una enfermedad rara o genotipo de baja frecuencia, la asociación pueda ser detectable y cuantificable de forma estadísticamente significativa (Keogh & Cox, 2014).

El análisis de los datos se ha realizado mediante un diseño no pareado, es decir, no se han seleccionado los controles individualmente para que se emparejen con cada caso de forma independiente (uno o más controles por caso), sino que el grupo de controles es seleccionado esencialmente al azar. Sin embargo, el diseño no pareado permite alterar esa aleatoriedad en la selección del grupo de controles teniendo en cuenta ciertas variables intrínsecas que serán similares entre un grupo y otro. En este caso el grupo de controles se encuentra en un rango de edad comparable al de los casos y ambos pertenecen al mismo grupo poblacional. De esta manera se pretende minimizar el sesgo en la selección de las muestras, salvo en aquellos aspectos intrínsecos al diseño del estudio, sobre todo en lo que se refiere a la selección de individuos que presentan la enfermedad (Keogh & Cox, 2014).

2.1. Muestra de estudio.

Como población de estudio se han seleccionado varones gallegos. Galicia es una de las regiones más occidentales de Europa continental. A través de sucesivas colonizaciones, invasiones y conquistas a lo largo de la historia se ha ido configurando el trasfondo genético de la población gallega, desde celtas a romanos y germanos. Pese a los cambios en la estructura y comunicación poblacional establecidos por estos últimos, las áreas costeras de Galicia permanecieron relativamente aisladas del resto de la península. Durante los siglos de ocupación musulmana el noroeste de la Península Ibérica (Galicia y la cornisa Cantábrica) se convirtieron en refugio de todos aquellos que huían de los invasores, con el incremento de la población que ello implica. En los últimos siglos la emigración ha pasado a formar una parte esencial en la estructura de la población gallega, ya que desde el siglo XIX la historia de Galicia ha estado marcada por el movimiento migratorio a otros países de Europa, así como a Latinoamérica, lo cual afectó a la estructura demográfica de la región (Varela, Fariña, Diéguez, & Lodeiro, 2008; Calderón et al., 2007).

2.1.1. PERIODO Y ÁREA DE ESTUDIO.

La muestra analizada en este estudio se puede dividir en cinco grupos. Los dos primeros grupos, recogidos en el Hospital Arquitecto Marcide de Ferrol, incluyen los 200 primeros casos y controles del análisis y se han recogido durante el año 2011. El tercer grupo pertenece al mismo Hospital, pero se corresponde con muestras de fechas posteriores (2014). El cuarto grupo se recogió en el área sanitaria de Santiago de Compostela y consta de 30 casos. Por último, el quinto grupo pertenece a la zona de Sanxenxo, en el área sanitaria de Pontevedra, y las muestras fueron tomadas en julio de 2016. Todos estos datos se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución y periodo de recogida de muestras.

Grupo de la muestra	Identificación muestras
Ferrol1	CA1-CA200; CA250; CA253
Ferrol2	CO1-CO200
Ferrol-Feb/14	CA261-CA320
Santiago de Compostela	CA217-CA247
Pontevedra	CO201-CO249

La recogida de muestras se llevó a cabo en las tres áreas indicadas en la tabla 1: Ferrol, Santiago de Compostela y Pontevedra. Estas zonas de muestreo delimitan el origen geográfico de la muestra total en la que aparecen tres núcleos como origen mayoritario, tal y como se observa en la figura 51.



Figura 51. Distribución geográfica del origen de las muestras.

2.1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

La selección de los individuos participantes en este estudio se ha realizado aplicando los siguientes criterios:

- Todos los individuos de la muestra son varones gallegos autóctonos hasta la tercera generación.
- La edad mínima requerida para formar parte del estudio se estableció en 50 años en el momento de toma de la muestra.
- Los casos incluidos se corresponden con individuos que presentan cáncer de próstata primario con ausencia de metástasis.
- Los individuos pertenecientes al grupo control son usuarios del *Servizo Galego de Saúde* (SERGAS) a los que no les ha sido diagnosticada ningún tipo de neoplasia.

2.1.3. CRITERIOS BIOÉTICOS.

Este trabajo cumple todos los principios bioéticos establecidos en la Declaración de Helsinki con respecto a investigaciones médicas en seres humanos. Se ha llevado a cabo con la participación voluntaria de hombres en plena posesión de sus facultades mentales. No se ha obtenido beneficio alguno con este estudio y se ha realizado para contribuir al conocimiento sobre esta enfermedad y al bienestar de los pacientes de cáncer de próstata presentes y futuros. Durante el desarrollo del trabajo no se ha causado daño a ninguno de los participantes del estudio.

2.2. Recogida de las muestras.

2.2.1. MUESTRA BIOLÓGICA.

El material biológico utilizado en este estudio ha sido sangre venosa total extraída mediante la punción de venas del área de la fosa cubital, almacenada en tubos de vacío con anticoagulante, tal y como se realiza para los análisis de sangre clínicos rutinarios. Una vez extraída la sangre de cada individuo y etiquetado cada tubo para su posterior identificación, éstos fueron almacenados a temperatura de congelación (-18°C) para evitar la degradación de la muestra.

2.2.2. CUESTIONARIOS.

Además del material biológico, para llevar a cabo este trabajo son imprescindibles una serie de datos personales proporcionados por cada participante del estudio. Por un lado, es necesario conocer sus antecedentes familiares, tanto en relación al área geográfica de procedencia como en relación a la enfermedad, para poder aplicar eficazmente los criterios de inclusión. Por otro lado, es importante conocer aspectos sobre hábitos personales y patologías no directamente relacionadas con el cáncer, con el objeto de analizar las posibles interacciones entre estos factores y el perfil genético en relación con el desarrollo de la enfermedad. Todas las cuestiones realizadas se muestran en el cuestionario incluido en el Anexo 2, en el cual se incluye una

explicación del proyecto, un formulario de consentimiento para el uso de los datos personales y también un cuadro de anulación en caso de que alguno de los participantes deseara dar de baja dicho consentimiento.

En este trabajo no han sido utilizados todos los datos obtenidos mediante el cuestionario. Concretamente, los datos analizados han sido: fecha de nacimiento, altura, peso, PSA, cáncer de próstata y tabaquismo.

2.3. Selección de marcadores genético moleculares.

El primer paso en la selección de los marcadores genético moleculares que se han incluido en esta tesis doctoral ha sido la elección, como cuerpo central del trabajo, de la función celular en la que interviene la expresión de los genes en los que están situados dichos marcadores. En este caso se ha seleccionado la inflamación como núcleo de la tesis por ser un proceso altamente relacionado con el cáncer y particularmente con el cáncer de próstata, como se ha detallado previamente en la introducción. En relación a este proceso también se han seleccionado marcadores situados en genes involucrados en la reparación del ADN. Al vincular dos funciones celulares vitales, que a su vez se pueden relacionar con el desarrollo de PCa, se pretende mostrar una imagen más completa del proceso que puede conducir al desarrollo de la enfermedad.

A continuación, se llevó a cabo una exhaustiva revisión bibliográfica de artículos publicados que relacionaban SNPs e indels con los procesos de inflamación y reparación de ADN y con el desarrollo de cáncer, específicamente de PCa.

Los marcadores seleccionados pueden agruparse en tres grupos:

1. Polimorfismos de los que existe un elevado número de estudios en cáncer de próstata, independientemente de su significación: estos tienen interés debido a la gran cantidad de información disponible, la cual nos permite llevar a cabo un análisis comparativo y epidemiológico completo. El hecho de que haya muchos datos disponibles permite la posibilidad de llevar a cabo estudios comparativos que aporten mayor fiabilidad a las conclusiones alcanzadas. En este grupo se incluyen la IL-1 β rs16944, IL-6 rs1800795, la IL-10 rs1800896 y XRCC1 rs25487.

2. Polimorfismos estudiados en otros tumores, pero con pocos o ningún estudio de cáncer de próstata: el interés principal de estos SNPs radica en la novedad de los resultados obtenidos en este estudio. Además, permiten analizar las diferencias existentes entre el desarrollo de distintos tumores en lo que se refiere al marcador y su influencia. Este grupo incluye la IL-1 α rs3783553, IL-18 rs187238, IL-17A rs2275913, TNF- α rs1799964 y ERCC4 rs744154.

3. SNPs nuevos o poco estudiados en cáncer: los resultados obtenidos pueden tener un impacto elevado por ser novedosos, aunque la ausencia de datos en otros estudios limita los análisis comparativos, como es el caso del MIF rs2070767.

De este modo quedan agrupados todos los marcadores genético moleculares incluidos en este trabajo, siendo un total de 10, de los cuales ocho están implicados en distintas etapas de procesos inflamatorios y dos en rutas de reparación de ADN.

En todos los casos, en los marcadores seleccionados la frecuencia del alelo minoritario debe cumplir el criterio de polimorfismo (1%) en la población general o, en su defecto, en la población europea. Además, deben estar perfectamente identificados: pertenencia a la especie humana, ubicación en el genoma, disponibilidad de las frecuencias en distintas poblaciones y conocimiento de la secuencia alrededor del sitio polimórfico. Finalmente, deben estar validados, quedando perfectamente claro que no son artefactos, para lo que se utilizan las bases de datos *online* dbSNP (Sherry *et al.*, 2001) y *1000 Genomes* (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

Además de utilizar estas bases de datos para la validación de cada polimorfismo también se han consultado en busca de otros datos. La dbSNP es una base de datos que posee una completa colección de secuencias de SNPs, identificándolos con su código propio (rs) además de aportar otra información como la frecuencia alélica, la localización en el gen y el cromosoma, las últimas actualizaciones en los datos de cada polimorfismo, información sobre el efecto del cambio nucleotídico en el gen, etc. La información presente en esta base de datos, que a su vez forma parte del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, *National Center for Biotechnology Information*), se ha utilizado en varios apartados del trabajo. Por otra parte, el proyecto *1000 Genomes* pretende generar una base de datos con la que estudiar la variabilidad genética humana. Dado que hoy en día el número de secuencias sigue aumentando, es una base de datos en continua actualización de la que se han extraído los datos de frecuencias poblacionales de este trabajo.

2.4. Extracción de ADN y genotipado.

2.4.1. EXTRACCIÓN DE ADN.

El ADN se ha extraído a partir de sangre venosa mediante tres métodos:

- Fenol-cloroformo-alcohol-isoamílico (Sambrook, Fritsch, & Maniatis, 1989).
- Kit *JetQuick* (*JetQuick® Genomic DNA Purification Kit*; Genomed GmbH; Löhne, Alemania).
- Kit de purificación *Masterpure* (*MasterPure™ DNA Purification Kit*; Epicentre, Illumina; Madison, EEUU).

El método de extracción de ADN de fenol-cloroformo-alcohol-isoamílico consta de dos fases principales. En la primera fase el objetivo es extraer el ácido nucleico de su envoltura celular, mediante su lisado por agitación e incubación en un tampón de lisis. A continuación, es necesario degradar la fracción proteica asociada al ADN mediante la adición de proteinasa K. La segunda fase consiste en un tratamiento con fenol-cloroformo-alcohol-isoamílico,

mediante el cual se separa el ADN de otros componentes celulares. En esta etapa de la extracción se aprovecha la tendencia hidrofílica de los grupos fosfato del ADN para que éste quede disuelto en la fase acuosa, mientras que las proteínas y los lípidos se disolverán en la fase de solventes orgánicos como son el fenol, el cloroformo y el alcohol isoamílico. La adición de etanol a la fase acuosa provoca la precipitación del ADN, permitiendo su posterior recuperación y su disolución en agua estéril (Sambrook *et al.*, 1989).

El método de extracción mediante el kit *JetQuick* se basa en la utilización de columnas que incorporan membranas de sílica. Los silicatos presentan una elevada afinidad por el ADN en condiciones alcalinas y de elevada concentración salina. Los métodos de purificación de ácidos nucleicos basados en sílica emplean un proceso muy sencillo de unión, lavado y elución. En primer lugar, el ADN se fija a la membrana de sílica utilizando un tampón de elevada concentración salina y pH, mientras que el resto de moléculas atraviesan la membrana separándose del ADN. A continuación, se realiza un lavado de la membrana para eliminar trazas residuales de polisacáridos y proteínas. Finalmente, el ADN se eluye en condiciones de baja concentración salina utilizando tampones de elución o simplemente agua estéril (Vogelstein & Gillespie, 1979).

El tercer método utilizado fue el kit de purificación *MasterPure*. Como en el primer método, se lleva a cabo una fase de lisis celular, seguida por una fase de desalinización (*desalting* o *salting out*) que provoca la precipitación de las proteínas celulares (Miller, Dykes, & Polesky, 1988). Mediante una centrifugación se separan estas proteínas precipitadas del ADN que queda en el sobrenadante. Y finalmente, al igual que en el método de fenol-cloroformo-alcohol-isoamílico, se realiza una precipitación alcohólica del ADN y su posterior disolución.

2.4.1.1. Protocolo para extracción de ADN a partir de sangre total mediante Fenol-Cloroformo-Isoamílico.

Fase 1: Lavado y lisado.

1. Añadir 400 µl de sangre y 800 µl de agua destilada en un microtubo de 1,5 ml y mezclar por inversión.
2. Incubar 10 min a T^a ambiente.
3. Centrifugación a 13000 rpm (16060xg) durante 5 min (microcentrífuga Biofuge-pico, Heraeus, Hanau Alemania).
4. Descartar el sobrenadante.
5. Añadir 1 ml de agua destilada y resuspender, si es necesario con ayuda del vórtex.
6. Centrifugar 5 min a 13000 rpm y descartar el sobrenadante.
7. Añadir 450 µl de DBL (Tris-HCl a pH 7 y 1 M, EDTA-NaOH a pH 8 y 0,5 M, NaCl 5 M. y 50 µl de SDS al 10%).
8. Mezclar hasta disolver el pellet y dejar 1 hora en reposo a T^a ambiente.
9. Añadir 25 µl de proteinasa K (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, EEUU) de 10 mg/ml.
10. Incubar a 56°C toda la noche o a 65°C 2 horas.

Fase 2: Fenol-cloroformo → extracción.

11. Sacar las muestras del baño y colocarlas 5 min en hielo picado.
12. Añadir 600 µl de fenol. Mezclar por inversión 40 veces.
13. Centrifugar 5 min a 13000 rpm en microcentrífuga.
14. Extraer el sobrenadante y pasar a nuevos tubos de 1,5 ml.
15. Añadir 500 µl de cloroformo-isoamílico (24:1) y mezclar 40 veces.
16. Centrifugar 5 min a 13000 rpm.
17. Extraer el sobrenadante a nuevos tubos, con especial cuidado de no arrastrar cloroformo.
18. Añadir 1 ml de etanol absoluto (mantenido a -20°C) en cada tubo.
19. Dejar entre 15 y 30 min en el congelador, a -20°C.
20. Descongelar moviendo suavemente, ayudando a la precipitación del ADN.
21. Centrifugar a 13000 rpm durante 5 min.
22. Vaciar el etanol por decantación.
23. Eliminar los restos de etanol: 15 min los tubos boca abajo sobre papel limpio. Después en gradilla boca arriba se deja evaporar el etanol.
24. Resuspender el ADN en 100 µl de agua estéril. Mezclar muy suavemente, asegurándose de que el ovillo se ha despegado de la pared.
25. Incubar a 56°C toda la noche.
26. Resuspender suavemente con la pipeta.
27. Conservar en el congelador (-20°C) para largos periodos o a 4°C si se va a utilizar a corto plazo.

2.4.1.2. Protocolo kit *JetQuick* para la purificación de ADN a partir de sangre venosa total.

1. Pipetear 200 µl de sangre total en un tubo de 1,5 ml.
2. Añadir 20 µl de proteasa GENOMED (20mg/ml) y mezclar meticulosamente con vórtex o invirtiendo el tubo.
3. Añadir 200 µl del tampón K1 y mezclar.
4. Incubar durante 10 min a 58°C.
5. Añadir 200 µl de etanol absoluto (Tª ambiente) y mezclar inmediata y meticulosamente para prevenir cualquier precipitación de ácidos nucleicos debida a las elevadas concentraciones de alcohol.

6. Montar una columna de micro-spin de *JetQuick* con un tubo receptor de 2 ml. Añadir la muestra a la columna de micro-spin sin humedecer el borde de la copa micro-spin y centrifugar la muestra durante 1 min a 10300 rpm (10000xg) para que atraviese la membrana de sílice.

7. Descartar el líquido filtrado del tubo receptor, volver a montar la unidad micro-spin con el tubo receptor y lavar la columna de *JetQuick* aplicando 500 µl de tampón KX reconstituido con etanol y centrifugar durante 1 min a 10300 rpm.

8. Descartar el líquido filtrado del tubo receptor, volver a montar la unidad micro-spin con el tubo receptor y lavar la columna *JetQuick* aplicando 500 µl de tampón K2 reconstituido con etanol y centrifugar durante 1 min a 10300 rpm.

9. Descartar el líquido filtrado del tubo receptor, volver a montar el micro-spin y el tubo receptor y centrifugar el tubo vacío otra vez durante 1 minuto a 11200 rpm (12000xg) para limpiar la membrana de sílice de cualquier líquido residual.

10. Descartar el tubo receptor e insertar el tubo micro-spin de *JetQuick* en un tubo nuevo de 1,5 ml, añadir 200 µl de agua precalentada a 70°C al centro de la membrana, incubar la columna durante 2 min a T^a ambiente y centrifugar 2 min a 11200 rpm.

El rendimiento de la extracción puede aumentar un 15% haciendo un segundo paso de elución de los 200 µl de ADN eluido.

El volumen del tampón de elución puede ser reducido a 100 µl si se desea obtener una mayor concentración de ADN.

11. Almacenar el ADN eluido en el microtubo de 1.5 ml. Conservar en el congelador (-20°C) para largos periodos o a 4°C si se va a utilizar a corto plazo.

2.4.1.3. Protocolo kit *MasterPure* para la purificación de ADN a partir de sangre venosa total.

1. Añadir 200 µl de sangre en un tubo de 1,5 ml.

2. Añadir 600 µl de “*Red Cell Lysis Solution*”. Invertir 3 veces para mezclar y golpear el fondo del tubo para suspender cualquier resto de sangre.

3. Incubar a T^a ambiente 5 min y agitar con el vórtex brevemente. Incubar otros 5 min seguidos de otra breve mezcla con el vórtex.

4. Centrifugar 1 min a 13000 rpm (16060xg).

5. Eliminar la mayoría del sobrenadante (dejar unos 25 µl de líquido). Resuspender el pellet con vórtex.

6. Añadir 300 µl de “*Tissue and Cell Lysis Solution*” pipeteando varias veces.

7. Colocar las muestras en hielo entre 3 y 5 min.

8. Añadir 175 µl de “*MPC Protein Precipitation Reagent*” a la muestra lisada y mezclar vigorosamente con el vórtex durante 10 s.

9. Centrifugar durante 10 min a 13000 rpm.

10. Pasar el sobrenadante a un tubo limpio y descartar el pellet.
11. Añadir 500 µl de isopropanol. Invertir el tubo entre 30 y 40 veces.
12. Centrifugar durante 10 min a 13000 rpm.
13. Eliminar el isopropanol con pipeta, con cuidado de no soltar el pellet.
14. Añadir 200 µl de etanol al 70%, con cuidado de no soltar el pellet, eliminar el etanol con pipeta sin apurar demasiado. Repetir este lavado con otros 200 µl de etanol al 70%.
15. Centrifugar 1 min a 13000 rpm antes de eliminar el etanol. En esta ocasión eliminar el máximo etanol posible sin arrastrar el pellet.
16. Dejar evaporar el etanol.
17. Resuspender el ADN en 70 µl de agua estéril. Conservar en el congelador (-20°C) para largos periodos o a 4°C si se va a utilizar a corto plazo.

2.4.2. AMPLIFICACIÓN Y GENOTIPADO.

El genotipado se ha llevado a cabo utilizando los servicios del Centro Nacional de Genotipado (CeGen), plataforma tecnológica creada en el año 2003 y que actualmente forma parte de la Plataforma en Red de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos (PPRB²) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIH). El protocolo seguido corresponde al publicado por Oeth y colaboradores (2005).

El CeGen recibe las muestras de ADN en placas de 96 pocillos (Fig. 52). Seis de los pocillos de cada placa se entregan vacíos y son usados como controles, tres de ellos se mantendrán vacíos y serán los controles negativos, mientras que los otros tres son los controles positivos, con genotipos conocidos y parentesco de primer grado, es decir, padre, madre e hijo.

Los nombres de las muestras no pueden contener espacios, ni caracteres como /,.,(), *.												
<div> Customer: JLBC Plate: 1 Date: 15 junio 2015 Sample concentration: 40 ng/µl Volume: 40 µl </div>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
B	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
C	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	empty
D	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	empty
E	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	empty
F	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86	empty
G	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87	empty
H	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	empty
Atención: Está altamente recomendado incluir una muestra duplicada en cada placa (muestra de DNA identificada con el mismo nombre repetida en dos pocillos escogidos aleatoriamente) como refuerzo adicional al control de calidad de resultados.												

Figura 52. Plantilla para placa de 96 pocillos. En gris los controles del CeGen.

El primer paso de la amplificación se lleva a cabo mediante el uso del robot de puntas fijas *Tecan Freedom Evo*. Se pasan 2 µl de ADN de las muestras a una placa de 384 pocillos. Las posiciones de los controles de calidad del CeGen, tanto positivos como negativos, se marcan en la parte inferior de la placa. A continuación, ya en las nuevas placas, se le añade la mezcla de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para la amplificación de ADN (Tabla 2). Esta mezcla se prepara con los reactivos correspondientes a la tecnología *Agenda Bioscience* (antes Sequenom). En primer lugar, se hace una mezcla con los cebadores correspondientes a cada marcador. Para cada diseño suelen amplificarse conjuntamente entre 15 y 36 marcadores, siendo 36 el máximo teórico, por lo que se seleccionan cebadores que actúen de manera eficaz conjuntamente y se diluyen a una concentración de 10X a partir de una concentración de 100X y se mezclan para añadirlos a la mezcla de PCR. Dicha mezcla se dispensa con un volumen fijo de 3 µl por pocillo. Todo este primer proceso se lleva a cabo en la sala de pre-PCR, perfectamente aislada para intentar evitar posibles contaminaciones.

Tabla 2. Cantidades y componentes de la mezcla de PCR (Oeth et al., 2005).

Reactivo	Concentración en 5 µl	Volumen (1 reacción)	Volumen (384 reacciones)*
H ₂ O nanopura	NA	1,850 µl	888 µl
Tampón PCR (10X)	1,25X	0,625 µl	300 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1,625 mM	0,325 µl	156 µl
Mezcla dNTP (25 mM)**	500 mM	0,100 µl	48 µl
Mezcla cebadores (500 nM de cada uno)	100 nM	1,000 µl	480 µl
ADN genómico (5-10 ng/ µl)	5-10 ng/reacción	1,000 µl	480 µl
Hotstar Taq® (5U/ µl)	0,5 U/reacción	0,100 µl	48 µl
Total		5,000 µl	2400 µl

*Volúmenes incluyen un 25% de excedente.

**No más de 5 ciclos de descongelación

El servicio de genotipado del CeGen utiliza un programa de termociclado fijo, de manera que las peticiones de los clientes deben adaptarse a dicho programa, el cual se detalla a continuación:

- 94° C 15 min
 - 94° C 20 s
 - 56° C 30 s
 - 72° C 1min
 - 72° C 3 min
 - 4° ∞
- (45 ciclos)

Tras la PCR, antes de la reacción de extensión, mediante la utilización de una fosfatasa alcalina (SAP, *shrimp alkaline phosphatase*) se lleva a cabo la desfosforilación de los dNTPs no incorporados, que podrían interferir en la reacción de secuencia. Con este tratamiento de desfosforilación los dNTPs no incorporados se transforman en dNMPs que no interfieren en la extensión. Para ello se realiza una mezcla con los componentes y las cantidades indicadas en la tabla 3. Se añaden 2 µl de la mezcla en cada 5 µl de la reacción de PCR. Las placas se agitan brevemente con vórtex, se centrifugan suavemente y se introducen en el termociclador.

Tabla 3. Mezcla de SAP

Reactivos	Volumen (1 reacción)	Volumen (384 reacciones)*
H ₂ O Nanopura	1,530 µl	734,4 µl
Tampón SAP 10X	0,170 µl	81,6 µl
Enzima SAP (10U/ µl)	0,300 µl	144,0 µl
Total	2,000 µl	960,0 µl

*Los volúmenes incluyen un 25% de excedente

El programa de SAP es el siguiente:

- 37° C 20 min
- 85° C 50 min
- 4° C ∞

Los cebadores de extensión se diseñan de tal manera que sean de tamaño progresivamente ascendente, para que los picos resultado del análisis posterior con MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) no se solapen. Esto se lleva a cabo añadiendo colas para aumentar el peso molecular de los cebadores. Este procedimiento implica un aumento acumulativo de ruido de fondo que complicaría la lectura de los genotipos, por lo que se utiliza mayor concentración de los cebadores de extensión cuanto mayor es la masa de cada uno de ellos. El método general para ajustar la extensión de los cebadores es dividirlos en grupos de mayor masa y en grupos de menor masa. Todos los cebadores incluidos en el grupo de masa elevada presentan el doble de concentración con respecto al grupo de menor masa.

La reacción iPLEX (*increased Plexing Efficiency and Flexibility*) es el siguiente paso en el proceso de genotipado, para lo cual se realiza la mezcla con las condiciones indicadas en la tabla 4 utilizando vórtex y un breve centrifugado final.

Tabla 4. Mezcla iPLEX

Reactivos	Concentración en 9 µl	Volumen (1 reacción)	Volumen (384 reacciones)**
H ₂ O nanopura	NA	0,755 µl	362,40 µl
Tampón iPLEX (10X)	0,222X	0,200 µl	96,00 µl
Mezcla extensión iPLEX	1X	0,200 µl	96,00 µl
Mezcla cebadores (7 µM:14 µM)*	0,625 µM:1,25 µM	0,804 µl	385,92 µl
Enzima iPLEX	1X	0,041 µl	19,68 µl
Total		2,000 µl	960,00 µl

*Ambas cantidades ilustran la concentración duplicada de los cebadores de elevada masa respecto a los de baja masa.

**Los volúmenes incluyen un 25% de excedentes.

Se lleva a cabo la reacción en un termociclador usando el siguiente programa:

- 94°C 30 s
 - 94°C 5 s
 - 52°C 5 s
 - 80°C 5 s
 - 52°C 5 s
 - 80°C 5 s
 - 72°C 3 min
 - 4°C ∞
- 40 ciclos
- 5 ciclos

Una vez terminada esta reacción es necesario un segundo proceso de purificación. Dicho proceso se lleva a cabo con resinas para eliminar las sales añadidas (tampones de PCR, cloruro de magnesio, etc.). Si no se eliminan totalmente las sales, generan ruido y la línea de fondo de los resultados aumenta demasiado de grosor, lo que dificulta la detección de algunos picos y en ese caso los resultados obtenidos no son fiables (falsos positivos, picos no detectados, ruido de fondo).

Para realizar este proceso de purificación se añaden 15 µl de agua mili Q para cada muestra, dispensada por otro robot *NX, Beckman Coulter*. Después se añaden 6 mg de resina, para lo que se usa un molde que a continuación se une a la placa para pasar la resina a los pocillos. Finalmente se somete a agitación la placa en el robot *Roto Shake Genie* durante 20 min para que se mezcle homogéneamente la resina con el agua y la muestra. El paso siguiente es centrifugar las muestras (3000 rpm 5 min) para que la resina, junto con las sales que arrastra, quede en el fondo y el robot dispensador pipetee solo la muestra, sin tocar la resina, de manera que no se contaminen las puntas y con ellas las muestras.

Este robot (*MassARRAY Nanodispenser*) transfiere 15 nl de cada muestra a un microchip. Cada microchip (*SpectroCHIP Bioarray*) consiste en una placa de 384 micropocillos más diez posiciones adicionales para controles de calibrado. Estos pequeños chips son los que se utilizan en el proceso de MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*), que se explica a continuación y aparece ilustrado en la figura 53:

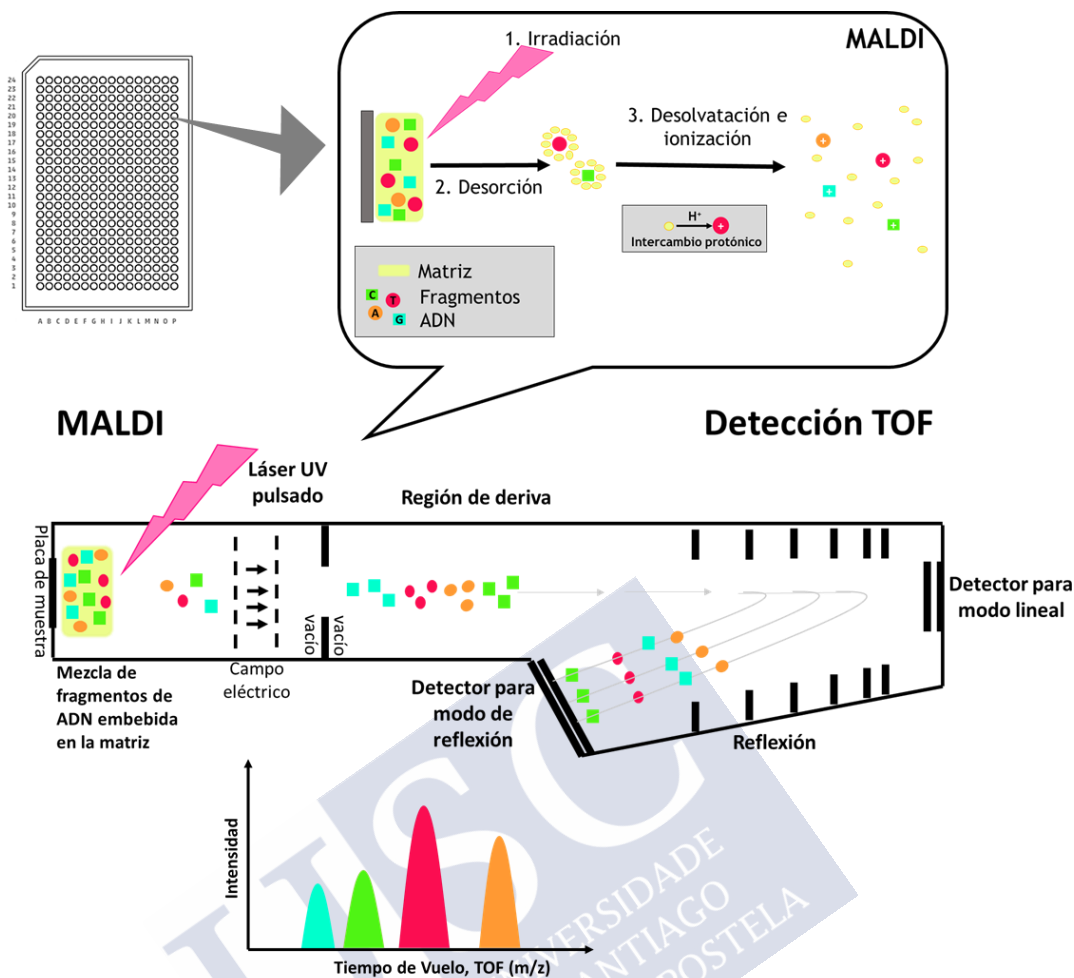


Figura 53. Esquema de MALDI-TOF. Basada en "MALDI-TOF - General Instrumentation," n.d.

- El ADN incorporado a la matriz del microchip es sometido a una etapa de desorción-ionización. Se somete a un bombardeo láser pulsante de baja intensidad a todos los micropocillos, formándose una micronube de iones de la propia matriz, en la cual el ADN va a estar excitado como consecuencia de la radiación láser. Esto se aprovecha para provocar la separación molecular, ya que el grado de excitación que presentan las moléculas de ADN es diferente dependiendo de la secuencia de cada molécula. Las diferencias en los grados de excitación son suficientes para distinguir secuencias que se diferencian en un solo nucleótido, como es el caso de los SNPs.
- Las diferentes moléculas de ADN van a migrar a distinta velocidad en una columna de vacío dependiendo de la magnitud de la excitación, debido al campo magnético establecido. Los iones cuentan con diferente carga y masa, por consiguiente, los de mayor masa volarán más lentamente que los de menor masa y los de mayor carga más rápidamente que los de menor carga. Éstos pasan por un detector que mide el tiempo de vuelo, registrándose así las diferencias puntuales, asociándole a cada molécula un valor de cociente masa-carga. Se registra el paso de las moléculas mediante un sistema de picos que indican una migración diferencial.
- Al acoplar este tipo de ensayos a un formato de biochips, esto permite hacer el análisis simultáneo de múltiples SNPs de diferentes individuos (*screening*).

Los datos generados en el espectrómetro de masas se transfieren a un ordenador en el cual se analizan los resultados por medio del *software TyperAnalyzer v.4.0.22*. (Fig. 54).

En la esquina superior izquierda de la figura 54 se ven representados los resultados del análisis de una de las muestras incluidas en el microchip. El primer paso del proceso que lleva a cabo el *software* es un doble barrido para identificar el chip con la base de datos introducida. En el espectro correspondiente a cada pocillo, que se muestra arriba a la derecha, se observan los picos para todos los SNPs que se estudian en ese ensayo, además de los máximos y mínimos, que se calibran mediante los primeros diez pocillos del microchip. Una vez terminado el doble barrido de la placa, el *software* realiza un ajuste de la línea de fondo del espectro. Cuando una línea de fondo absorbe algunas de las crestas de los genotipos esto indica que no se han eliminado adecuadamente las sales. En otros casos no hay picos, lo que significa que la PCR ha fallado. A medida que se realiza el análisis el *software* va marcando cada una de las muestras en la imagen de la placa: en verde se muestran los pocillos con resultado positivo, con círculos rojos los resultados erróneos y con rombos rojos los controles negativos.

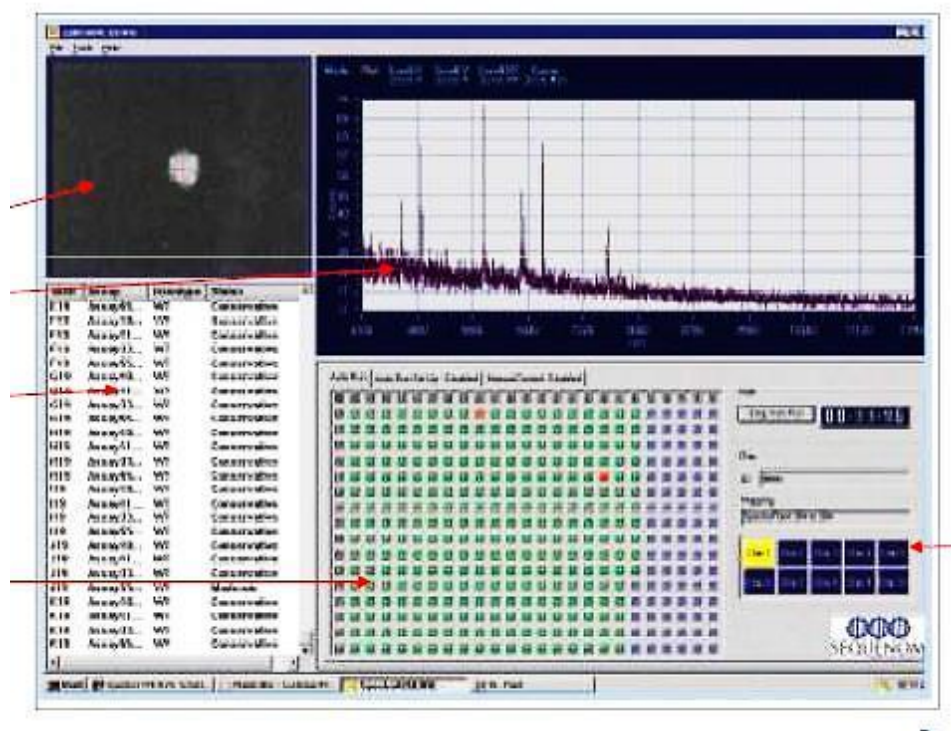


Figura 54. Visualización de los resultados obtenidos en el espectrofotómetro de masas mediante el *software TyperAnalyzer v.4.0.22*.

Una vez terminado el análisis, los resultados se transfieren a una base de datos a partir de la cual se realiza un análisis manual. La figura 55 muestra la salida del programa informático con el que se van a llevar a cabo dichos análisis. Se observa una representación de la placa genotipada: en verde oscuro las muestras que han obtenido resultados con casi el total de individuos genotipados claramente, en verde más claro las muestras que han obtenido resultados con algún genotipo no identificado claramente, en amarillo los resultados dudosos y que hay que revisar y en rojo están aquellas muestras para los que el *software* no ha podido asignar genotipo para los distintos marcadores, ya sea por error en la amplificación o porque los resultados obtenidos no están claros. Dentro de los individuos que aparecen marcados en

rojo tienen que estar todos los que se han usado como control negativo, indicando que no hay contaminación.

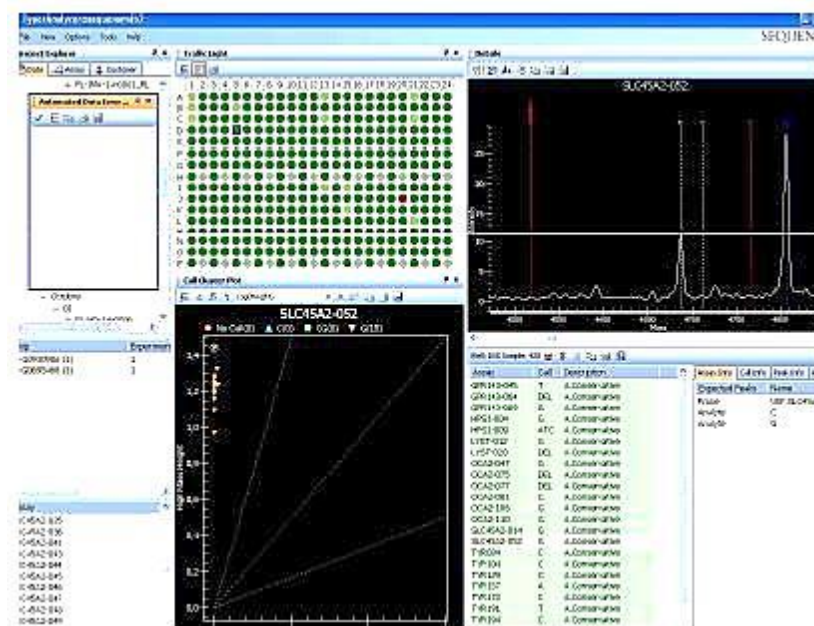


Figura 55. Salida del programa informático para el análisis manual

Para llevar a cabo la revisión manual del genotipado se marca cada pocillo individualmente, observándose cada uno de los SNPs analizados. La lista se muestra en el cuadro de la parte inferior derecha de la imagen mientras que la representación gráfica se encuentra arriba a la derecha. Un ensayo completo mostraría una imagen semejante a la figura 56 a. Se puede ver la distribución de todos los individuos para cada uno de los marcadores analizados. Dentro de las distintas opciones de visualización se encuentra la de clúster, que permite ir comprobando el genotipo de cada individuo para los marcadores de forma independiente, mediante la obtención de tres líneas que enmarcan los genotipos presentes (Fig. 56 b). El propio sistema asigna cada muestra a un determinado grupo y nos presenta la fiabilidad en su asignación: el grupo conservativo engloba a las muestras para las que se ha obtenido una asignación muy fiable, en el grupo moderado la fiabilidad es relativamente alta, el grupo agresivo se corresponde con muestras dudosas y el grupo de baja probabilidad es aquel en el que el sistema no asigna a la muestra ningún genotipo. En aquellos casos en los que la identificación del genotipo no es inmediata se compara su perfil con otras muestras cercanas para comprobar si se pueden asignar al mismo grupo. Es decisión del investigador asignar estas muestras (marcados en rojo en la figura 56 c) a un genotipo u otro.

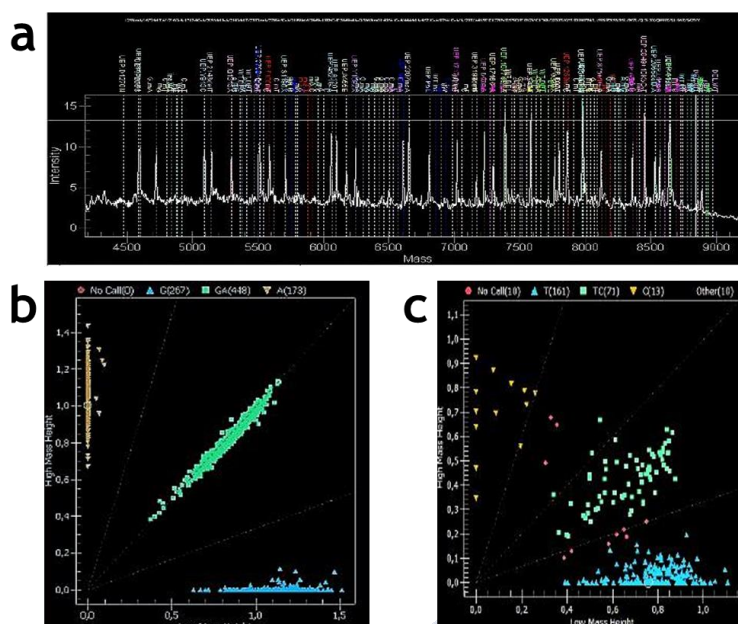


Figura 56. Detalles de la salida para el análisis manual. a. Picos obtenidos para un ensayo completo. b. Visión de resultados de un clúster con cada uno de los genotipos perfectamente marcados. c. Visión de resultados de un clúster con genotipos difusos.

Por último, se lleva a cabo un control de calidad en el que se comprueban las muestras replicadas en placas e interplacas, así como el trío de controles positivos (muestras CEPH; *Coriell Institute*) y negativos presentes en cada placa.

2.5. Análisis estadístico.

2.5.1. ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO EN LAS MUESTRAS DE CASOS Y CONTROLES

El primer paso del estudio de la muestra tras el genotipado de cada marcador genético es el análisis de sus frecuencias, tanto genotípicas como alélicas.

2.5.1.1. Cálculo de frecuencias.

Permite un primer acercamiento al perfil genético de la muestra mediante el cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas para cada uno de los marcadores genético moleculares. Todos ellos son *loci* autosómicos dialélicos por lo que en este apartado nos referiremos genéricamente a ambos alelos como A y a.

El cálculo de las frecuencias genotípicas observadas se ha realizado mediante un simple conteo genético. A partir de estas frecuencias se han calculado las frecuencias alélicas observadas.

Frecuencia absoluta del alelo A = $f(A) = (2 \cdot AA) + Aa$

Frecuencia absoluta del alelo a = $f(a) = (2 \cdot aa) + Aa$

$$f_r(A) = p = \frac{f(A)}{2N} = \frac{(2 \cdot AA) + Aa}{2N}$$

$$f_r(a) = q = \frac{f(a)}{2N} = \frac{(2 \cdot aa) + Aa}{2N}$$

Siendo f_r las frecuencias relativas y f las frecuencias absolutas.

Finalmente se ha calculado para la frecuencia de cada alelo su error estándar:

$$s.e. = \sqrt{f_r(A) \cdot (1 - f_r(A)) / 2N}$$

$$s.e. = \sqrt{f_r(a) \cdot (1 - f_r(a)) / 2N}$$

2.5.1.2. Análisis del equilibrio Hardy-Weinberg.

Este análisis nos permite comprobar si la distribución alélica de un marcador genético en una población concreta se ajusta a los supuestos asumidos por el equilibrio Hardy-Weinberg. Estos supuestos incluyen panmixia, tamaño infinito de la población, ausencia de migración, mutación y selección natural. La existencia o ausencia de equilibrio genético es un factor más a tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados de los análisis de asociación. En el caso de los 3 primeros supuestos el análisis del equilibrio Hardy-Weinberg nos proporciona información sobre la dinámica y estructura de la población estudiada. En el caso de la selección natural nos ofrece indicios de un posible carácter adaptativo de cada uno de los *loci* analizados.

En este tipo de estudios de caso-control el análisis de equilibrio Hardy-Weinberg se realiza únicamente en el grupo de los controles ya que es el grupo con menos sesgo del estudio y se espera que su distribución para cada uno de los marcadores estudiados sea comparable a la de la población general.

El análisis del equilibrio Hardy-Weinberg no se lleva a cabo en los casos porque se espera que haya una sobreestimación del alelo de riesgo o asociado con el desarrollo de la enfermedad objeto de estudio, respecto a la frecuencia existente en la población general.

Este análisis se realiza mediante un test de bondad de ajuste como es el estadístico χ^2 a partir de los valores de frecuencias genotípicas absolutas observadas y esperadas:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{observadas} - \text{esperadas})^2}{\text{esperadas}}$$

Las frecuencias esperadas según el equilibrio Hardy-Weinberg se calculan de la siguiente manera:

$$f(AA) = AA^2 \cdot N \quad f(Aa) = (2 \cdot AA \cdot aa) \cdot N \quad f(aa) = aa^2 \cdot N$$

En este test se ha aplicado un nivel de significación (α) igual a 0,05, siendo los grados de libertad (g. l.) el número de clases genotípicas menos el número de alelos. Todos los marcadores analizados son dialélicos con tres genotipos posibles, por lo tanto, para todos los análisis realizados los grados de libertad son:

$$g. l. = n^{\circ} \text{ clases genotípicas} - n^{\circ} \text{ alelos} = 3 - 2$$

$$g. l. = 1$$

Cuando se realizan tests múltiples utilizando el mismo grupo de datos aumenta la probabilidad de cometer un error de Tipo 1 (rechazar la hipótesis nula cuando es cierta). Para corregir este problema en los tests χ^2 , llevados a cabo para evaluar el equilibrio Hardy-Weinberg en cada uno de los 10 marcadores analizados, hemos utilizado el método de Bonferroni-Sidak para comparaciones múltiples (Sidak, 1967) que recalcula el nivel de significación utilizando la siguiente formula:

$$\alpha' = 1 - (1 - \alpha)^{1/k}$$

Siendo α' = Nivel de significación corregido. α = Nivel de significación original. k = Número de tests.

2.5.1.3. Índice de heterocigosidad esperado.

Según Francisco J. Ayala (Ayala & Kiger, 1984) la heterocigosidad es la frecuencia esperada promedio de individuos heterocigotos por *locus*. Se calcula estimando la frecuencia de los individuos heterocigotos en cada *locus* asumiendo equilibrio genético y, a continuación, se obtiene la media de estas frecuencias para todos los *loci*. Este índice permite valorar el grado de polimorfismo de un *locus*. Estima la probabilidad de que, en un *locus* único, cualquier par de alelos escogidos al azar sean diferentes entre sí. Su valor oscila entre 0 y 1. Para un *locus* dialélico:

$$h = 1 - \sum p_i^2 = 1 - f_r(A)^2 + f_r(a)^2$$

Siendo p_i la frecuencia alélica

Nei y Roychoudhury (1974) desarrollaron una corrección para estimar la heterocigosidad esperada insesgada o diversidad genética, teniendo en cuenta el tamaño muestral.

$$\hat{h} = 2n[1 - \sum (p)^2]/2n - 1$$

Siendo n el tamaño de la muestra.

2.5.1.4. Estadístico t_s .

El estadístico t_s , desarrollado por Sokal y Rohlf (1969), es un test de significación de diferencias entre dos porcentajes y se ha utilizado para valorar si hay diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de casos y controles para cada uno de los dos alelos de cada marcador.

$$t_s = \frac{\text{arc. sen} \sqrt{p_{1a}} - \text{arc. sen} \sqrt{p_{2a}}}{\sqrt{820,8 \left(\frac{1}{2n_1} + \frac{1}{2n_2} \right)}}$$

Siendo:

p_{1a} y p_{2a} las frecuencias relativas del alelo a en las poblaciones 1 y 2 respectivamente. En este caso la población 1 serían los casos y la población 2 los controles.

$2n_1$ y $2n_2$ el número total de alelos muestreados en las poblaciones 1 y 2 respectivamente.

Para obtener la probabilidad asociada a esta t_s se compara con los valores de una tabla de áreas de una curva normal (nivel de significación, α , igual a 0,05), doblando la probabilidad ya que se trata de un test de dos colas.

2.5.2. ANÁLISIS DE PSA.

La concentración de Antígeno Prostático Específico (PSA) es una variable cuantitativa, utilizada en procedimientos clínicos como marcador no genético del riesgo a desarrollar PCa. Según los criterios sanitarios establecidos, un valor de concentración de PSA en sangre por encima de 4 ng/μl implica un riesgo que hace necesario un estudio específico de la próstata del paciente.

En este caso se ha llevado a cabo un análisis de la posible relación entre los niveles de PSA y el genotipo de los casos, ya que en los controles su valor es, generalmente, inferior a 4. Dicho análisis se ha realizado utilizando el software SPSS. El estudio de la posible relación entre PSA y genotipos se ha hecho a varios niveles y en todos ellos se ha llevado a cabo un análisis descriptivo que incluye: media, mediana y desviación típica.

Los niveles en los que se ha estudiado la posible relación son los siguientes:

1. Análisis de relación entre PSA y los tres genotipos posibles independientemente.
2. Análisis de relación entre PSA con punto de corte en su media (10) y los tres genotipos.

Cada uno de estos tres análisis sigue los siguientes pasos:

- Comprobación del criterio de normalidad, se realiza mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilk. Si la probabilidad obtenida es mayor que 0,05 cumple el criterio de normalidad y por tanto se realizan pruebas paramétricas. Si la probabilidad obtenida es menor que 0,05 no se puede asumir normalidad en la distribución y por lo tanto se realizan pruebas no paramétricas.
- Comprobación del criterio de homocedasticidad o igualdad de varianzas.

- Pruebas Paramétricas:

- ANOVA de 1 vía: permite explorar la existencia de posibles diferencias en las medias en los distintos grupos mediante contrastes a posteriori. Si se obtiene valor p significativo se pueden llevar a cabo pruebas Post Hoc (análisis múltiples), siendo el más común el de Bonferroni.
- t de Student: es utilizada cuando la variable cualitativa tiene solo dos categorías. Permite comparar las medias de la variable continua en dos grupos independientes.
 - Prueba de Levene: Comprueba la homogeneidad de varianzas y determina cuál es el valor de t de Student que debe escogerse. En caso de que p sea menor que 0,05 se duda de la homogeneidad de las varianzas mientras que en los casos en que el valor p sea mayor que 0,05 se supone que hay homogeneidad en las varianzas.

- Pruebas no Paramétricas:

- U de Mann-Whitney: Utilizada cuando no se cumple el criterio de normalidad y la variable categórica tiene dos categorías.
- Kruskal-Wallis: Utilizada cuando la muestra no cumple el criterio de normalidad y la variable categórica tiene tres o más categorías.

2.5.3. CÁLCULO DE RIESGO.

Para evaluar los resultados de los ensayos clínicos se han descrito diversas medidas de asociación, entre las cuales se encuentran el riesgo relativo (RR), el *Hazard Ratio* (HR) y el *Odds Ratio* (OR). En ocasiones se ha producido cierta confusión entre los términos de riesgo relativo y *Odds Ratio* siendo ambos utilizados como equivalentes.

El HR tiene en cuenta el efecto temporal, por lo que resulta la forma idónea de valorar el riesgo cuando hay implicada una variable de supervivencia. Se calcula el riesgo en un instante concreto respecto al periodo de tiempo en el que se realiza el estudio, por lo tanto, esta medida de asociación no se utiliza en estudios de caso-control retrospectivos.

Los resultados de RR y OR van siempre en la misma dirección, sin embargo, las discrepancias en magnitud entre ambas pueden ser muy significativas ya que los RR pueden variar en función del número de muestras analizadas. Por lo tanto, cuando se utilizan OR como medida de riesgo relativo en estudios de cohortes o en pruebas clínicas aleatorias en los que el efecto de una variable sobre un suceso es elevado, ofrece una sobreestima del RR (Knol, 2012).

Las estimas de RR solo pueden derivarse de estudios de cohorte prospectivos, en los cuales un grupo de individuos de la misma población, expuestos y no expuestos a un factor de riesgo determinado, son monitorizados para comprobar en cuáles de ellos se desarrolla la enfermedad objeto de estudio. La posibilidad de ajustar los resultados para variables confusoras es una de las razones de la utilización de los OR en estudios de cohortes o en pruebas clínicas aleatorias. Sin embargo, existen estrategias alternativas para ajustar el riesgo relativo (RR), tales como el método de Mantel-Haenszel o la regresión log-binomial entre otras (Knol, 2012).

En los estudios de caso-control no es posible estimar los RR directamente porque la prevalencia del suceso adverso (por ejemplo, PCa) no se suele conocer ya que la relación numérica entre casos y controles es controlada por el investigador. (Clarke *et al.*, 2011; Sackett, Deeks, & Atman, 1996). El cálculo de OR debe utilizarse únicamente en los estudios de caso-control y en análisis de regresión logística ya que proporcionan las estimas más fiables de riesgo relativo (Deeks, 1998).

En conclusión, en los estudios retrospectivos comparativos como el que se ha llevado a cabo en este trabajo, el posible riesgo a desarrollar una enfermedad asociado a poseer alguna característica, como un genotipo concreto, se evalúa mediante el cálculo de *Odds Ratio* (razón de probabilidades).

2.5.3.1. Odds Ratio.

Para aplicar esta razón se analizan dos muestras que se corresponden con los sujetos en los que ocurre un suceso y los sujetos en los que no ocurre. Se estima para ambos grupos la proporción de sujetos que presentan el factor cuya asociación se investiga. En nuestro caso, el *Odds Ratio* relaciona la probabilidad de que se desarrolle cáncer de próstata en los individuos portadores de un genotipo(s) frente a la probabilidad de que esto ocurra en portadores de otro genotipo(s) (Tabla 5a). Los valores obtenidos oscilan entre 0 e ∞ . Un valor de 1 implica que la probabilidad de desarrollar PCa es la misma independientemente de los genotipos comparados (Tabla 5b).

Tabla 5a. Descripción de OR mediante una tabla de contingencia

	Casos (PCa)	Controles (No PCa)	
Genotipo A	a	b	
Genotipo B	c	d	
	Total de Casos	Total de NO Casos	N (total)

$$OR = \frac{a/b}{c/d} = \frac{\text{Probabilidad de PCa en genotipo A}}{\text{Probabilidad de PCa en genotipo B}}$$

Tabla 5b. Interpretación de los resultados del cálculo de OR

OR > 1	Asociación positiva	Factor de riesgo
OR = 1	No asociación	
OR < 1	Asociación negativa	Factor protector

2.5.3.2. Cálculo de la significación estadística.

Se han aplicado dos métodos estadísticos diferentes para cuantificar la bondad del ajuste del análisis de OR.

2.5.3.2.1 Intervalos de Confianza (95%).

Se han calculado intervalos de confianza (IC) del 95% utilizando la siguiente fórmula (Piedrola Gil, 2001).

$$IC = OR^{(1 \pm Z/\chi_{hm})}$$

Siendo χ_{hm} la χ de Haenszel-Mantel:

$$\chi_{hm} = \sqrt{\frac{(N-1) \cdot (a \cdot d - b \cdot c)^2}{(a+b) \cdot (c+d) \cdot (a+c) \cdot (b+d)}}$$

Siendo Z la constante dependiente del porcentaje, que para un intervalo de confianza al 95% tiene un valor de 1,96.

Se considera una asociación estadísticamente significativa en aquellos casos en los que el valor de 1 no se encuentre dentro del intervalo. El valor exacto del OR calculado se encontrará dentro del propio intervalo, que será más reducido cuanto mayor sea el tamaño muestral (Piedrola Gil, 2001).

2.5.3.2.2. Test χ^2 .

Permite valorar la significación de una relación sin cuantificarla. Su valor será mayor cuanto mayor sea la relación entre las variables y menor cuanto más cerca se esté de la ausencia de relación entre variables.

Aquellos valores de χ^2 asociados a la tabla de contingencia (Tablas 6 a y b), a partir de la cual se calculan los OR, cuyo valor p se encuentra por debajo del nivel de significación 0,05 indican una asociación estadísticamente significativa entre las variables analizadas.

Tabla 6a. Tabla de contingencia de observados.

	Casos (PCa)	Controles (No PCa)	
Genotipo A	a	b	a+b
Genotipo B	c	d	c+d
	a+c	b+d	N

Tabla 6b. Tabla de contingencia de esperados.

	Casos (PCa)	Controles (No PCa)	
Genotipo A	$[(a+c) \cdot (a+b)]/N$	$[(b+d) \cdot (a+b)]/N$	
Genotipo B	$[(a+c) \cdot (c+d)]/N$	$[(b+d) \cdot (c+d)]/N$	

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{observados} - \text{esperados})^2}{\text{esperados}}$$

2.5.3.3. Ajuste de los Odds Ratio.

Para evaluar si algún otro factor puede actuar como variable confusora en el análisis de asociación entre el genotipo y el riesgo a desarrollar PCa, hemos utilizado la metodología de Mantel-Haenszel para calcular las OR ajustadas usando como variables de ajuste edad, consumo de tabaco e IMC (Mantel & Haenszel, 1959; Miettinen, 1976).

2.5.4. MODELOS GENÉTICOS.

El cálculo de OR se ha llevado a cabo aplicando diferentes modelos genéticos que tratan de plasmar la naturaleza de la interacción entre los marcadores genéticos y el desarrollo del PCa (Dorak, 2017; Horita & Kaneko, 2015)

Normalmente, los estudios caso-control manejan solo dos grupos, tratamiento/control o expuesto/no expuesto. En contraste, los estudios de asociación genética tienen un mínimo de tres grupos (genotipos), y deben ser agrupados para su comparación de manera que reflejan la forma en que los diferentes genotipos afectan al riesgo de desarrollar la enfermedad. Esta dicotomización de los tres grupos se realiza aplicando diferentes modelos genéticos de herencia que tratan de plasmar la naturaleza de la relación entre genotipo y enfermedad (Attia, Thakkestian, & D'Este, 2003; Dorak, 2017; Horita & Kaneko, 2015; Lewis, 2002)

2.5.4.1. Modelo dominante-recesivo:

Asumiendo un *locus* con dos alelos, **A** y **a**, este modelo analiza una asociación genética con un alelo dominante y uno recesivo. En este modelo la presencia de una única copia del alelo dominante determina la existencia de dos genotipos asociados a un riesgo equivalente frente a un genotipo de riesgo diferente.

Si el alelo dominante es el **a** los genotipos de riesgo equivalente serían **aa** y **Aa**, frente a un genotipo de riesgo diferente (**AA**). En este caso para el cálculo del OR se aísla el homocigoto recesivo, frente a los dos genotipos portadores del alelo dominante.

$$OR = AA/(Aa + aa)$$

$$OR = (Aa + aa)/AA$$

Si el alelo dominante es el **A**, la presencia de una única copia de este alelo determina la existencia de dos genotipos asociados a un riesgo equivalente, frente a un genotipo de riesgo diferente.

Los grupos que se comparan en este caso para el cálculo del OR son la combinación del heterocigoto y la variante homocigótica **AA**, frente al genotipo homocigoto **aa**.

$$OR = (Aa + AA)/aa$$

$$OR = aa/(Aa + AA)$$

2.5.4.2. Modelo sobredominante.

Se analiza una asociación genética basada en la ventaja/desventaja del heterocigoto frente a los dos homocigotos. Por lo tanto, en este caso se comparan ambos homocigotos agrupados respecto al heterocigoto.

$$OR = (AA + aa)/Aa \quad OR = Aa/(AA + aa)$$

2.5.4.3. Modelo codominante.

El modelo codominante se corresponde a aquel en el cual el riesgo conferido por el heterocigoto **Aa** se sitúa entre el riesgo del homocigoto **AA** y del homocigoto **aa**. Los OR en este caso se calcularían por separado para cada una de las tres comparaciones posibles de genotipos:

$$OR = AA/Aa \quad OR = AA/aa \quad OR = Aa/aa$$

Dentro de este modelo se podrían incluir los modelos aditivo y multiplicativo, en los cuales el riesgo de cada genotipo se relacionaría del siguiente modo (Clarke *et al.*, 2011):

$$\text{Aditivo: } AA = f_0; Aa = f_0 \cdot \gamma; aa = f_0 \cdot 2 \cdot \gamma$$

$$\text{Multiplicativo: } AA = f_0; Aa = f_0 \cdot \gamma; aa = f_0 \cdot \gamma^2$$

Siendo **a** el alelo de riesgo, f_0 el riesgo basal asociado al genotipo **AA** y γ el parámetro de riesgo asociado al alelo **a**, con valores de γ mayores que 1.

2.5.4.4. Modelo alélico.

Analiza el impacto de cada alelo individualmente y su resultado es equivalente al modelo multiplicativo (Horita & Kaneko, 2015). En este caso los OR se calculan utilizando las frecuencias absolutas de cada alelo en casos y controles

$$OR = A/a \quad OR = A/a$$

$$\text{Siendo: } A = 2AA + Aa \quad y \quad a = 2aa + Aa$$

De todas maneras, hay que tener en cuenta que estos modelos fueron originalmente desarrollados para el análisis de enfermedades de herencia mendeliana simple y por lo tanto pueden resultar demasiado sencillos para el estudio de enfermedades complejas influenciadas por la variación en múltiples *loci* (García-Closas, Jacobs, Kraft, & Chatterjee, 2011). En este sentido el modelo codominante es el más informativo a la hora de detectar asociaciones cuando, como ocurre habitualmente, no se conoce el modelo de herencia (Lettre, Lange, & Hirschhorn, 2007). En este caso, para evaluar cuál de los modelos genéticos se ajusta mejor a los resultados obtenidos el método más efectivo es calcular los OR entre los tres genotipos y observar cómo se relacionan entre sí los riesgos asociados a cada uno de ellos.

2.5.5. ESTRATIFICACIÓN POR VARIABLES.

Una vez comprobado que los OR originales y los ajustados no presentan diferencias apreciables para cada marcador, además de estudiar la muestra a nivel global, se han hecho análisis estratificados en función de tres variables: edad, índice de masa corporal y tabaquismo.

Se han calculado las medias de cada una de estas variables en casos y controles y se han comparado utilizando un test-t (Altman, 1991) para evaluar la homogeneidad de los 2 grupos de la muestra con respecto a dichas variables.

2.5.5.1 Variables analizadas.

2.5.5.1.1. Edad.

La edad se ha calculado a partir de dos fórmulas diferentes para casos y controles. En los casos se ha hecho el cálculo utilizando la fecha en que se diagnosticó la enfermedad. En los controles ese cálculo se realizó utilizando la fecha del último contacto, que se corresponde con el último momento conocido en que los varones no tenían cáncer de próstata.

En el programa estadístico Microsoft Excel (2010) no se incluye el comando Edad, por lo que se ha creado el siguiente:

$$edad = SIFECHA(fecha_{nacimiento}; fecha_{actual}; y)$$

De esta manera se ha llevado a cabo el cálculo de la edad de forma exacta en años (y) para todos los individuos de la muestra, teniendo en cuenta que el valor “fecha actual” es diferente en casos y controles, tal y como se explicó anteriormente.

2.5.5.1.2. Índice de Masa Corporal (IMC).

Es una medida ampliamente utilizada para indicar el estado nutricional en adultos y se calcula a partir de la altura y el peso de cada individuo. La fórmula utilizada es la establecida por la Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization*, 2019d):

$$IMC = \frac{\text{peso en kg}}{(\text{altura en m})^2}$$

Dicha organización establece una clasificación global para asociar el estado nutricional del individuo con el IMC calculado, tal y como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Clasificación del estado nutricional en función del IMC (OMS)

Clasificación	IMC (kg/m ²)
Bajo peso	<18,50
Delgadez severa	<16,00
Delgadez moderada	16,00 - 16,99
Delgadez leve	17,00 - 18,49
Normal	18,50 - 24,99
Sobrepeso	≥ 25,00
Preobesidad	25,00 - 29,99
Obesidad	≥ 30
Obesidad leve	30,00 - 34,99
Obesidad media	35,00 - 39,99
Obesidad mórbida	≥ 40

Los rangos de IMC descritos en la tabla 6 se basan en el efecto potencial del exceso de grasa corporal sobre diversas enfermedades. El IMC fue desarrollado como un indicador de riesgo de patologías tales como enfermedades cardiovasculares, elevada presión arterial, osteoartritis, algunos cánceres y diabetes.

Como cualquier otra medida, el IMC no es perfecto ya que solo depende del peso y la altura, y no tiene en cuenta diferentes niveles de adiposidad basados en edad, actividad física y género. Por esta razón en algunos casos puede sobreestimarse la adiposidad y en otros subestimarse.

En adultos los valores son, teóricamente, independientes de edad y género. Sin embargo, en la población estudiada, todos ellos varones de más de 50 años, se ha observado una frecuencia muy inferior de individuos de bajo peso comparado con los individuos de sobrepeso, independientemente de que sean casos o controles. Esto podría deberse al sedentarismo asociado a la jubilación, a un tipo de vida semejante entre los varones del rango de edad estudiado en esta zona geográfica (alimentación y clima semejantes, condiciones físicas comparables, etc) o al supuesto de que a partir de cierta edad se produce, generalmente, un aumento de tejido adiposo y con él un incremento de IMC. En cualquier caso, para el análisis de esta variable por intervalos se han agrupado los individuos de bajo peso y de normopeso de tal manera que es posible comparar ese grupo con los de sobrepeso y obesidad.

2.5.5.1.3. Tabaquismo.

El consumo tabáquico se ha cuantificado mediante *pack-years*, un índice ampliamente utilizado que establece una relación entre la cantidad de tabaco consumido y el tiempo durante el cual se ha consumido dicho tabaco (*National Cancer Institute*, 2019b; Prignot, 1987).

$$\text{pack} - \text{years} = (\text{n}^{\circ} \text{ cigarrillos} / \text{día} \cdot \text{años fumando}) / 20$$

2.5.5.2. Análisis de estratificación.

La estratificación consistió en el establecimiento de intervalos para cada variable que permitan caracterizar la naturaleza y magnitud de la interacción entre genotipo y desarrollo de PCa. Los OR obtenidos, así como su significación estadística, nos permiten detectar los rangos de mayor impacto respecto al desarrollo del PCa. El primer paso consistió en el establecimiento de criterios comunes para todos los marcadores a la hora de establecer los intervalos de la estratificación. Así, para la edad se ha utilizado tanto la media de edad de la muestra, como algunos intervalos comúnmente utilizados en la bibliografía. En cuanto al IMC se ha usado la media de la muestra y la estratificación estandarizada por la OMS, aunque debido a las características concretas de los varones analizados, el bajo-peso y el normo-peso se han agrupado juntos. En el caso del tabaquismo, por desgracia, no se aplica un criterio homogéneo de clasificación en los trabajos publicados en la literatura científica. En muchos casos solo se establece la diferencia entre fumadores y no fumadores, mientras que, en otras ocasiones, en los que se cuantifica la intensidad del consumo tabáquico, los criterios de clasificación son muy heterogéneos. Teniendo esto en mente, en este trabajo se han aplicado algunas de las clasificaciones más utilizadas en el estudio del cáncer (*World Health Organization*, 2004).

Posteriormente se llevó a cabo el cálculo de OR dicotómicas utilizando diferentes puntos de corte a lo largo de la distribución de cada variable. Por ejemplo, para la edad se calculó el riesgo vinculado a cada año, comparando todos aquellos individuos que se encontraban por encima y por debajo de dicha edad. De este modo se pueden localizar los puntos de efecto máximo y mínimo, así como la evolución del efecto del marcador en función de las variables analizadas en lo que se refiere al desarrollo de PCa. Este estudio de estratificación se ha representado mediante gráficas de dispersión, en las que cada una de las líneas corresponde a un modelo genético y cada punto (representado con triángulos, cuadrados, círculos y asteriscos) a un valor de OR, tal y como se observa en la figura 57. En cada uno de los marcadores analizados se ha realizado la progresión ascendente y descendente de cada variable, con los modelos genéticos más representativos, generalmente los codominantes y excepcionalmente otro modelo de especial interés. En todas ellas el eje de abscisas se corresponde con las variables analizadas mientras que el de ordenadas es siempre el eje correspondiente a los OR calculados. Además, la línea horizontal puntuada indica el nivel de $OR = 1$, es decir, el valor de neutralidad. En este manuscrito no se incluyen todas las progresiones realizadas, sino únicamente aquellas que aportan información concreta y representativa del comportamiento del marcador.

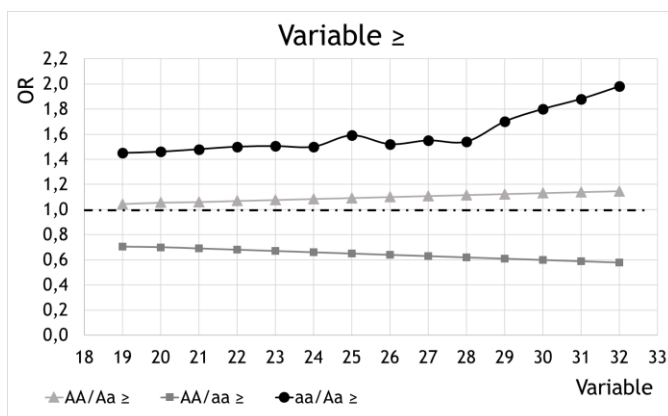


Figura 57. Ejemplo de evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata con el aumento de la variable.

Finalmente, se realizó una búsqueda más exhaustiva, llevada a cabo de forma independiente para cada uno de los marcadores, tratando de localizar aquellos intervalos en los que la influencia del genotipo sobre la probabilidad de desarrollar PCa alcanzaba su máximo impacto.

2.5.6. ANÁLISIS DE MARCADORES COMBINADOS.

Los marcadores correspondientes a genes relacionados con la inflamación se han analizado conjuntamente de tal modo que se han calculado los OR correspondientes a la interacción genotipo-genotipo entre distintos polimorfismos. En primer lugar, se han calculado todas las combinaciones posibles entre los genotipos de dos marcadores genéticos, obteniéndose un total de nueve combinaciones para cada pareja (Tabla 8). A continuación, se realizaron los análisis teniendo en cuenta los genotipos de riesgo o protectores obtenidos en el análisis general de los marcadores. De esta forma el efecto estimado en cada marcador se reforzaría al combinarlo con otro, permitiendo que el efecto de marcadores genéticos con baja penetrancia sea detectable en un análisis con el tamaño muestral de este trabajo.

Tabla 8. Distribución de combinaciones genotípicas a partir de los genotipos de dos marcadores dialélicos.

Genotipos	BB	Bb	bb
AA	AABB	AABb	AAbb
Aa	AaBB	AaBb	Aabb
aa	aaBB	aaBb	aabb

Los cálculos realizados se han llevado a cabo utilizando la misma metodología que en los análisis anteriores, es decir, mediante la realización de tablas de contingencia 2x2 para calcular los OR y la significación estadística asociada a cada uno de los valores obtenidos.



3. RESULTADOS.



En la tabla 9 se detallan diferentes características de la muestra objeto de análisis.

Tabla 9. Características de la muestra de casos y controles.

	PSA	Edad	IMC	Pack-years
Casos (n = 266)	264	266	251	263
Media \pm s.e.	9,913 \pm 0,931	64,81 \pm 0,388	28,38 \pm 0,226	26,02 \pm 1,917
Desv. típica	15,12	6,33	3,58	31,08
Controles (n = 247)	174	246	194	244
Media \pm s.e.	1,033 \pm 0,063	66,09 \pm 0,502	28,66 \pm 0,270	24,40 \pm 1,852
Desv. típica	0,83	7,88	3,76	28,92

Desv. típica: Desviación típica. s.e.: Error estándar.

Como se puede observar las diferencias entre las medias de las 3 variables de estratificación en casos y controles son bastante similares. Sin embargo, cuando se aplica un test-t de comparación de medias de muestras independientes se observa que para la edad la diferencia resulta ser significativa. Esto probablemente se debe a la inclusión en la muestra de 2 controles con una edad bastante superior al individuo con mayor edad de los casos. Cuando se eliminan estos 2 individuos del test-t las diferencias entre las medias de la edad dejan de ser significativas.

En cuanto al análisis descriptivo del PSA es importante destacar la diferencia de las medias entre casos y controles, siendo aproximadamente 10 en casos mientras que en controles es 1, un valor muy inferior. De la misma forma el rango en casos es de 220 mientras que en controles no llega a 8. Por otra parte, en ninguno de los dos grupos se cumple el criterio de normalidad en la distribución. La diferencia entre las medias es estadísticamente significativa ($p < 0.0001$), por lo que el estudio del PSA en relación a cada uno de los marcadores genéticos se hará independientemente en casos y controles.

3.1. Análisis de PSA.

El método utilizado es la comparación de medias con pruebas paramétricas o no paramétricas, según ha sido necesario. En el grupo de casos además del análisis global se ha realizado un análisis estratificado utilizando el valor aproximado de la media de la variable PSA en dicho grupo. En los controles el análisis se ha realizado únicamente en la muestra al completo debido a la ausencia de datos de PSA en muchos controles y, sobre todo, al estrecho rango de dichos valores en este grupo muestral (7,86). El análisis de relación entre PSA y genotipos se ha llevado a cabo únicamente en aquellos marcadores relacionados con los procesos inflamatorios, que parecen tener una incidencia directa sobre los niveles de PSA.

3.1.1. ANÁLISIS PSA/IL-1 α .

En este apartado se estudió la variable PSA del grupo de casos en relación a los genotipos del rs3783553 de la IL-1 α , tanto globalmente como estratificada, utilizando como criterio de agrupación la media de la variable (10).

En el análisis descriptivo del PSA sin estratificar los mayores valores para la media y la desviación típica se han obtenido en el genotipo heterocigoto, mientras que los valores de ambos homocigotos parecen bastante semejantes para ambos parámetros (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs3783553.

Estadístico	Ins-Del	Del-Del	Ins-Ins
N	100	22	115
Media \pm s.e.	12,070 \pm 2,299	8,759 \pm 1,536	8,492 \pm 0,649
Mediana	8,00	5,420	7,00
Desviación típica	22,989	7,204	6,963

La intención de este análisis es comprobar si la distribución del PSA es diferente en los tres genotipos posibles, para ello se han llevado a cabo comparaciones de medias que valoren estas diferencias en la distribución. El tipo de análisis varía dependiendo de si dicha distribución es normal o no. Por ello, el primer paso es comprobar la normalidad de la muestra, lo cual se lleva a cabo mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (para muestras con más de 50 individuos) y de Shapiro-Wilk (para muestras pequeñas, $N < 50$). En este caso todos los valores de significación de las pruebas de normalidad son menores que 0,05 por lo que no se puede asumir normalidad en la distribución del PSA en ninguno de los genotipos. Así, la comparación de medias se realizó mediante pruebas no paramétricas. Las más utilizadas son la U de Mann-Whitney o la ANOVA de 1 vía de Kruskal-Wallis para k muestras. El hecho de analizar 3 categorías (genotipos) implica que debe usarse la segunda, ya que la U de Mann-Whitney permite comparar únicamente dos grupos. Según los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para k muestras independientes ($p = 0,253$) se aceptaría la hipótesis nula, que afirma que la distribución de PSA es igual en las distintas categorías de IL-1 α .

De este modo, los valores del PSA se distribuyen de la misma forma en cualquiera de los genotipos del SNP analizado. Sin embargo, es posible que si se estratifica la variable PSA se pueda ver algún tipo de asociación entre ambas variables, por ello se hace la división tomando 10 como punto de corte.

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos en el análisis descriptivo con este punto de corte. En el rango de valores de PSA superiores o iguales a 10 el genotipo heterocigoto presenta la media más elevada, así como una mayor desviación típica. Por otra parte, en los casos con PSA menor que 10 el genotipo homocigoto Del-Del muestra la media mayor, pero las diferencias entre los genotipos son muy bajas.

Tabla 11. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA < 10
Ins-Del	N	33	67
	Media \pm s.e.	23,761 \pm 6,655	6,311 \pm 0,233
	Mediana	14,00	6,000
	Desviación típica	37,645	1,904
Del-Del	N	5	17
	Media \pm s.e.	19,300 \pm 4,060	6,658 \pm 0,388
	Mediana	17,00	5,20
	Desviación típica	9,08	1,599
Ins-Ins	N	26	89
	Media \pm s.e.	16,102 \pm 2,249	6,269 \pm 0,194
	Mediana	12,450	6,400
	Desviación típica	11,467	1,830

Para el grupo de varones con PSA igual o mayor que 10 la valoración de la normalidad obtiene resultados significativos al menos en un genotipo, por lo que deben realizarse pruebas no paramétricas para la comparación de medias. El resultado obtenido en la prueba de Kruskal-Wallis indica que para estos valores de PSA la distribución de dicha variable no presenta diferencias significativas en las tres categorías del rs3783553 ($p = 0,736$). Lo mismo sucede con los varones con PSA por debajo de 10, ya que no se puede afirmar que sigan una distribución normal y la prueba de Kruskal-Wallis indica que la distribución de PSA se mantiene entre los distintos genotipos ($p = 0,406$).

El PSA se estudia en este caso en el grupo de controles en su relación con los genotipos del rs3783553 de la IL-1 α (Tabla 12).

El genotipo con menor tamaño muestral (Del-Del) es también en el que se observa un valor mayor en la media, mientras que la desviación típica es máxima en el genotipo heterocigoto (Tabla 12).

Tabla 12. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs3783553.

Estadístico	Ins-Del	Del-Del	Ins-Ins
N	68	15	84
Media \pm s.e.	1,086 \pm 0,127	1,231 \pm 0,218	0,975 \pm 0,067
Mediana	0,855	1,010	0,845
Desviación típica	1,048	0,846	0,617

s.e.: Error estándar.

Todos los valores obtenidos en las pruebas de normalidad están por debajo del nivel de significación estadística ($p < 0,05$) por lo que no se puede afirmar que este grupo de valores siga una distribución normal. Las pruebas no paramétricas subsiguientes a este resultado no detectan diferencias estadísticas en la distribución del PSA en los distintos genotipos del rs3783553 ($p = 0,455$).

3.1.2. ANÁLISIS PSA/IL-1 β .

La descripción del PSA de los casos en relación a los tres genotipos del rs16944 de la IL-1 β se muestra en la tabla 13. La media de PSA es menor en el genotipo homocigoto AA, que es el minoritario. El genotipo heterocigoto presenta la mayor desviación típica, seguido por el homocigoto GG.

Tabla 13. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs16944.

Estadístico	AA	AG	GG
N	27	107	104
Media \pm s.e.	8,485 \pm 0,838	10,429 \pm 2,046	10,049 \pm 1,040
Mediana	7,20	7,300	7,00
Desviación típica	4,354	21,160	10,602

Para el rs16944 el PSA no presentaría una distribución normal y las medias no muestran diferencias entre los genotipos del marcador ($p = 0,967$).

Al dividir la muestra usando 10 como punto de corte, se observa que el heterocigoto tiene una media mayor para valores de PSA por encima de 10 mientras que por debajo de este valor la media es mayor en el genotipo AA, aunque con valores muy homogéneos (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA < 10
AA	N	6	21
	Media \pm s.e.	15,042 \pm 1,866	6,611 \pm 0,368
	Mediana	13,500	6,600
	Desviación típica	4,572	1,685
AG	N	28	79
	Media \pm s.e.	22,095 \pm 7,455	6,295 \pm 0,223
	Mediana	12,900	6,00
	Desviación típica	39,449	1,897
GG	N	30	71
	Media \pm s.e.	19,692 \pm 2,922	6,140 \pm 0,206
	Mediana	13,200	5,990
	Desviación típica	16,005	1,772

Ninguno de los grupos presenta distribución normal, y en ambos casos la distribución de PSA se mantiene entre los genotipos, con un nivel de significación de 0,995 para PSA mayor o igual que 10 y 0,714 para valores por debajo de 10.

En el análisis descriptivo del PSA en controles en relación a los genotipos del rs16944 se observa que los grupos con mayor tamaño muestral son también los genotipos con mayor media (Tabla 15).

Tabla 15. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs16944.

Estadístico	AA	AG	GG
N	18	65	83
Media \pm s.e.	0,780 \pm 0,149	0,975 \pm 0,66	1,157 \pm 0,114
Mediana	0,635	0,84	0,990
Desviación típica	0,633	0,532	1,040

Hay al menos un valor de significación en las pruebas de normalidad por debajo de 0,05 por lo que no se puede afirmar que sigan una distribución normal. Las pruebas no paramétricas permiten suponer que no hay diferencias estadísticas en la distribución del PSA en los distintos genotipos del rs16944 ($p = 0,072$).

3.1.3. ANÁLISIS PSA/IL-18.

En el análisis descriptivo de los casos se observa que los mayores valores de media y desviación típica aparecen en el genotipo CC que es también el mayoritario (Tabla 16).

Tabla 16. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs187238.

Estadístico	CC	CG	GG
N	124	96	17
Media \pm s.e.	11,070 \pm 1,922	9,001 \pm 0,539	8,206 \pm 1,196
Mediana	7,00	7,300	6,900
Desviación típica	21,400	5,279	4,933

Las pruebas de normalidad para los valores del PSA en este marcador no muestran una distribución normal por lo que las diferencias entre las medias de cada genotipo se calculan mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. La significación obtenida indica que la distribución se mantiene en las tres categorías ($p = 0,781$).

Al dividir el PSA en función de su valor se observa que la media para PSA por encima de 10 es mayor en el genotipo CC mientras que para valores por debajo de 10 los valores son muy semejantes en todos los genotipos (Tabla 17).

Tabla 17. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y <10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA <10
CC	N	31	93
	Media \pm s.e.	25,610 \pm 7,130	6,223 \pm 0,192
	Mediana	13,00	6,00
	Desviación típica	39,698	1,853
CG	N	31	65
	Media \pm s.e.	15,102 \pm 0,880	6,092 \pm 0,232
	Mediana	14,00	5,870
	Desviación típica	4,898	1,869
GG	N	2	15
	Media \pm s.e.	18,600 \pm 7,400	6,820 \pm 0,408
	Mediana	18,600	6,500
	Desviación típica	10,465	1,580

En ninguno de los grupos se ha observado una distribución normal ni diferencias significativas en la distribución entre los genotipos ($p = 0,992$ y $p = 0,342$).

La media del PSA de los controles en los genotipos CC y CG es muy parecida mientras que es ligeramente menor en el homocigoto GG. En cuanto al recuento es mucho menor en este genotipo homocigoto. La mayor desviación típica se observa en el genotipo CC seguido por el heterocigoto (Tabla 18).

Tabla 18. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs187238.

Estadístico	CC	CG	GG
N	85	67	15
Media \pm s.e.	1,066 \pm 0,104	1,041 \pm 0,091	0,929 \pm 0,106
Mediana	0,850	0,890	0,920
Desviación típica	0,958	0,744	0,411

La muestra analizada no cumple el criterio de normalidad y la distribución de los valores de PSA entre los distintos genotipos no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,830$).

3.1.4. ANÁLISIS PSA/IL-6.

En el grupo de casos las medias en los tres genotipos son muy semejantes, aunque la desviación típica es mucho mayor en el genotipo GG que en cualquiera de los otros dos (Tabla 19).

Tabla 19. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs1800795.

Estadístico	CC	CG	GG
N	26	124	107
Media \pm s.e.	10,652 \pm 2,733	9,477 \pm 0,659	10,418 \pm 2,066
Mediana	7,350	7,490	7,040
Desviación típica	13,938	7,340	21,375

Al evaluar el criterio de normalidad se obtienen valores de significación en todos los casos por debajo de 0,05, por lo tanto, la muestra no sigue una distribución normal. La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis indica que la distribución de PSA es muy similar entre las categorías o genotipos de IL-6 ($p = 0,438$).

El análisis descriptivo de la muestra dividida usando como punto de corte el valor de PSA de 10 se resume en la tabla 20. En ella se observa que la media del heterocigoto para $PSA \geq 10$ es bastante menor que en los otros dos genotipos mientras que para valores < 10 las medias de CG y GG son muy parecidas y ligeramente más elevadas que la de CC.

Tabla 20. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y <10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA < 10
CC	N	7	19
	Media \pm s.e.	23,070 \pm 8,858	6,077 \pm 0,496
	Mediana	14,310	6,600
	Desviación típica	23,436	2,163
CG	N	38	86
	Media \pm s.e.	16,459 \pm 1,612	6,392 \pm 0,203
	Mediana	13,600	6,050
	Desviación típica	9,939	1,881
GG	N	25	82
	Media \pm s.e.	23,976 \pm 8,386	6,284 \pm 0,190
	Mediana	12,600	6,040
	Desviación típica	41,930	1,718

Una vez llevado a cabo el análisis descriptivo se realiza la valoración de la normalidad. Para valores de PSA ≥ 10 no se puede afirmar que exista distribución normal y ésta se mantiene en los distintos genotipos ($p = 0,999$). Para valores de PSA < 10 las pruebas de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov no permiten afirmar la existencia de distribución normal en la muestra. El resultado de la prueba de Kruskal-Wallis ($p = 0,267$) indica que la distribución del PSA entre los genotipos del marcador no muestra diferencias estadísticamente significativas.

En la tabla 21 se muestran los resultados obtenidos para el análisis descriptivo en relación al valor de PSA en controles y los genotipos de la IL-6. La distribución es relativamente homogénea en los genotipos CG y GG, pero el grupo de CC es más pequeño y con una media de PSA ligeramente superior.

Tabla 21. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs1800795.

Estadístico	CC	CG	GG
N	25	70	78
Media \pm s.e.	1,190 \pm 0,158	1,006 \pm 0,077	1,011 \pm 0,110
Mediana	1,050	0,880	0,840
Desviación típica	0,792	0,649	0,976

Todos los valores de significación en las pruebas de normalidad están por debajo del nivel de significación estadística ($p < 0,05$), de tal modo que este grupo no seguiría una distribución normal. Al igual que en los casos anteriores la prueba de Kruskal-Wallis muestra que no hay diferencias significativas entre las categorías comparadas ($p = 0,496$).

3.1.5. ANÁLISIS PSA/IL-10.

En el análisis descriptivo de los casos (Tabla 22) se puede observar que la media más alta se encuentra en el genotipo CC, que es además el minoritario. De la misma forma este grupo es también el que presenta una mayor desviación típica.

Tabla 22. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs1800896.

Estadístico	CC	CT	TT
N	50	131	80
Media \pm s.e.	12,318 \pm 4,312	9,296 \pm 0,690	9,317 \pm 0,975
Mediana	7,610	7,000	7,425
Desviación típica	30,490	7,897	8,718

Mediante la valoración del criterio de normalidad utilizando las pruebas de Kolmogorov-Smirnov ($N > 50$) y de Shapiro-Wilk ($N < 50$) se han obtenido resultados de significación por debajo de 0,05 por lo que no se puede asumir distribución normal en el PSA en ninguno de los genotipos del rs1800896 de la IL-10. Por lo tanto, se ha llevado a cabo la prueba de Kruskal-Wallis, que señala que no existen diferencias en la distribución del PSA entre los tres genotipos del marcador (0,779).

Los datos descriptivos de la distribución del PSA en el SNP de la IL-10, calculados dividiendo la muestra mediante el valor aproximado de su media, se muestran en la tabla 23. La media y la desviación típica para valores por encima de dicho punto es considerablemente mayor en el genotipo CC que en los otros dos, que presentan valores muy parecidos. Para niveles de PSA inferiores a 10 la mayor media también corresponde al homocigoto CC, aunque los valores son muy similares en los tres genotipos.

Tabla 23. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y <10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA <10
CC	N	12	38
	Media \pm s.e.	30,597 \pm 17,439	6,545 \pm 0,305
	Mediana	12,250	6,040
	Desviación típica	60,411	1,880
CT	N	36	95
	Media \pm s.e.	17,478 \pm 1,883	6,196 \pm 0,189
	Mediana	14,000	6,000
	Desviación típica	11,296	1,842
TT	N	22	58
	Media \pm s.e.	17,416 \pm 2,867	6,246 \pm 0,256
	Mediana	12,500	6,050
	Desviación típica	13,446	1,952

Para valores de PSA mayores o iguales a 10 la significación siempre es inferior a 0,05 por lo que no se puede afirmar que siga una distribución normal. A pesar del elevado valor medio observado en los individuos de genotipo CC, el resultado de la prueba de Kruskal-Wallis ($p = 0,435$) indica que la distribución del PSA en este intervalo se mantiene sin diferencias significativas entre los distintos genotipos del rs1800896 de la IL-10.

En la parte de la muestra con PSA inferior a 10 hay al menos un grupo con $p < 0,05$ en las pruebas de normalidad, por lo que no se puede asumir distribución normal. La prueba no paramétrica de comparación de medias indica que la distribución del PSA es la misma entre los genotipos ($p = 0,697$).

En los controles, las medias del PSA en los tres genotipos son relativamente parecidas. En cambio, el recuento es considerablemente menor en los homocigotos CC, siendo el grupo heterocigoto el mayoritario. La desviación típica es mayor en el genotipo heterocigoto que en cualquiera de los dos homocigotos (Tabla 24).

Tabla 24. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs1800896.

Estadístico	CC	CT	TT
N	28	90	55
Media \pm s.e.	1,037 \pm 0,132	1,088 \pm 0,106	0,932 \pm 0,068
Mediana	0,970	0,840	0,840
Desviación típica	0,701	1,006	0,506

Las pruebas de normalidad parecen indicar una distribución no normal. Y los resultados en la prueba de Kruskal-Wallis muestra un valor de significación de 0,657 con lo que se concluiría que la distribución del PSA no presenta diferencias significativas entre los genotipos.

3.1.6. ANÁLISIS PSA/IL-17A.

En el grupo de casos en los genotipos AG y GG se observa un número de individuos muy semejante y considerablemente mayor que el AA. Sin embargo, las medias son más parecidas entre AA y AG, siendo la de GG algo mayor. Es en este genotipo en el que la desviación típica también es mayor (Tabla 25).

Tabla 25. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs2275913.

Estadístico	AA	AG	GG
N	24	107	105
Media \pm s.e.	9,511 \pm 1,737	8,743 \pm 0,499	11,429 \pm 2,240
Mediana	7,415	7,00	7,300
Desviación típica	8,509	5,159	22,950

En este SNP el PSA no sigue una distribución normal, ya que se han obtenido valores de la prueba de normalidad por debajo de 0,05. La distribución del PSA no presenta diferencias significativas entre las categorías del rs2275913 de la IL-17A ($p = 0,771$).

Al dividir la muestra se observa una mayor homogeneidad en las medias para PSA por debajo de 10 que por encima, ya que en este grupo la media del genotipo GG es bastante mayor, así como su desviación típica (Tabla 26).

Tabla 26. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA < 10
AA	N	8	16
	Media \pm s.e.	17,137 \pm 3,968	5,698 \pm 0,598
	Mediana	12,100	5,50
	Desviación típica	11,223	2,392
AG	N	28	79
	Media \pm s.e.	15,718 \pm 1,019	6,271 \pm 0,176
	Mediana	14,000	6,080
	Desviación típica	5,391	1,567
GG	N	27	78
	Media \pm s.e.	26,283 \pm 8,135	6,288 \pm 0,223
	Mediana	13,000	6,00
	Desviación típica	42,272	1,970

Una vez llevado a cabo el análisis descriptivo se realiza la valoración de la normalidad, con resultados por debajo del nivel de significación de 0,05 para valores de PSA ≥ 10 , por lo que este grupo no sigue una distribución normal y no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en su distribución entre los distintos genotipos ($p = 0,964$). Lo mismo sucede para valores de PSA menores que 10, en los que tampoco se puede afirmar la existencia de distribución normal y la prueba no paramétrica realizada indica que no hay diferencias significativas en la distribución de la muestra ($p = 0,615$).

En los controles, los resultados del análisis descriptivo del PSA en relación a los tres genotipos del rs2275913 se muestran en la tabla 27. El genotipo homocigoto es minoritario, siendo su media también la menor, pero muy cercana a las de los otros dos genotipos. La mayor desviación típica se observa en el genotipo heterocigoto AG.

Tabla 27. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs2275913.

Estadístico	AA	AG	GG
N	13	84	70
Media \pm s.e.	1,019 \pm 0,172	1,063 \pm 0,107	1,024 \pm 0,081
Mediana	0,900	0,865	0,880
Desviación típica	0,621	0,982	0,676

Para finalizar el análisis de este marcador genético, el PSA tampoco sigue una distribución normal y no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos ($p = 0,817$).

3.1.7. ANÁLISIS PSA/MIF.

Los resultados del análisis descriptivo del PSA en el grupo de casos para el MIF se muestran en la tabla 28. En ellos se puede observar que las medias de los dos genotipos homocigotos son prácticamente iguales, mientras que la del heterocigoto es ligeramente menor.

Tabla 28. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs2070767.

Estadístico	CC	CT	TT
N	127	63	5
Media \pm s.e.	8,343 \pm 3,666	8,025 \pm 0,566	8,328 \pm 2,614
Mediana	7,30	6,900	6,50
Desviación típica	4,131	4,494	5,845

Una vez realizada la valoración del criterio de normalidad mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov ($N > 50$) y de Shapiro-Wilk ($N < 50$) se han obtenido resultados de significación por debajo de 0,05 por lo que no se puede asumir distribución normal. Por lo tanto, la comparación de las medias se ha llevado a cabo utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, cuyo resultado ($p = 0,464$) permite concluir que no hay diferencias en la distribución del PSA entre los genotipos del rs2070767 del MIF.

En el grupo de casos con PSA por encima de 10 se observa que los valores de la media de cada genotipo son relativamente próximos (Tabla 29), siendo el mayor el del genotipo heterocigoto. En cambio, para el grupo con valores de PSA por debajo de 10 hay más variación en las medias calculadas. La mayor se observa para el genotipo homocigoto CC, muy próxima a la del heterocigoto, pero no tanto a la del otro genotipo homocigoto.

Tabla 29. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA < 10
CC	N	32	95
	Media \pm s.e.	14,027 \pm 0,639	6,428 \pm 0,201
	Mediana	12,900	6,600
	Desviación típica	3,617	1,964
CT	N	13	50
	Media \pm s.e.	14,839 \pm 1,471	6,254 \pm 0,251
	Mediana	12,300	6,040
	Desviación típica	5,302	1,773
TT	N	2	3
	Media \pm s.e.	13,885 \pm 3,205	4,623 \pm 1,481
	Mediana	13,885	5,670
	Desviación típica	4,533	2,565

En el primer grupo analizado, con valores de PSA ≥ 10 los valores de significación de la prueba de normalidad se encuentran por debajo de 0,05 por lo que no se puede asumir que exista distribución normal. La prueba de Kruskal-Wallis implica que no hay diferencias estadísticamente significativas en la comparación de las medias entre los tres genotipos ($p = 0,232$). Por otra parte, en el grupo con PSA < 10 los valores obtenidos indican que seguiría una distribución normal, así como homogeneidad en sus varianzas. Por ello se ha llevado a cabo una ANOVA de un factor con la que se ha concluido que no hay diferencias significativas entre los genotipos ($p = 0,260$).

Por otro lado, en el grupo de controles las medias son muy parecidas en los tres genotipos y muy próximas a 1 (Tabla 30) mientras que la desviación típica máxima corresponde al genotipo CC.

Tabla 30. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs2070767.

Estadístico	CC	CT	TT
N	110	47	9
Media \pm s.e.	1,006 \pm 0,084	1,031 \pm 0,110	0,902 \pm 0,151
Mediana	0,840	0,920	0,800
Desviación típica	0,881	0,752	0,452

Este grupo no muestra una distribución normal y no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tres genotipos ($p = 0,106$).

3.1.8. ANÁLISIS PSA/TNF- α .

En el análisis descriptivo del PSA sin estratificar los mayores valores para la media y la desviación típica se han observado en el genotipo homocigoto TT. Los valores del heterocigoto son ligeramente menores pero muy próximos, mientras que los del genotipo CC son inferiores (Tabla 31).

Tabla 31. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs1799964.

Estadístico	CC	CT	TT
N	14	67	116
Media \pm s.e.	7,866 \pm 0,919	8,012 \pm 0,518	8,346 \pm 0,409
Mediana	8,450	6,900	7,300
Desviación típica	3,439	4,244	4,401

Dados los resultados obtenidos en la valoración del criterio de normalidad no se puede afirmar que los conjuntos de datos sigan una distribución normal. En el análisis subsiguiente no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las medias ($p = 0,358$).

Al dividir la muestra usando 10 como punto de corte, se observa que el heterocigoto tiene una media mayor para valores de PSA por encima de 10 mientras que por debajo de este valor la media es mayor en el genotipo TT, aunque las diferencias en este caso son mínimas (Tabla 32).

Tabla 32. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.

Genotipos	Análisis	PSA ≥ 10	PSA < 10
CC	N	4	10
	Media \pm s.e.	11,800 \pm 0,649	6,292 \pm 0,830
	Mediana	11,850	6,305
	Desviación típica	1,299	2,625
CT	N	14	53
	Media \pm s.e.	14,589 \pm 1,225	6,275 \pm 0,233
	Mediana	12,500	5,940
	Desviación típica	4,585	1,670
TT	N	29	87
	Media \pm s.e.	14,417 \pm 0,757	6,323 \pm 0,212
	Mediana	13,400	6,600
	Desviación típica	4,076	1,980

Para valores de PSA ≥ 10 no se puede afirmar que exista distribución normal y las medias son homogéneas entre los distintos genotipos ($p = 0,136$). Para valores de PSA < 10 las pruebas de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov permiten afirmar la existencia de distribución normal en la muestra. De la misma forma se cumple el criterio de homocedasticidad de varianzas, lo que lleva a realizar una ANOVA de una vía. Los resultados de este último análisis ($p = 0,990$) indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los genotipos.

En cuanto al análisis descriptivo del grupo de controles (Tabla 33), las medias son bastante similares en los tres genotipos. En cambio, la desviación típica es bastante mayor en el genotipo heterocigoto que en los homocigotos.

Tabla 33. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs1799964.

Estadístico	CC	CT	TT
N	10	69	92
Media \pm s.e.	0,810 \pm 0,176	1,139 \pm 0,129	0,964 \pm 0,064
Mediana	0,635	0,890	0,835
Desviación típica	0,558	1,073	0,612

Las pruebas de normalidad parecen indicar una distribución no normal y los resultados en la prueba de Kruskal-Wallis ($p = 0,260$) permiten concluir que la distribución del PSA no presenta diferencias significativas entre los genotipos.

3.2. Análisis de asociación marcadores/PCa.

3.2.1. INTERLEUQUINA 1A– rs3783553.

En la tabla 34 se muestra la distribución genotípica de la población estudiada, además de las frecuencias alélicas calculadas para los casos y los controles. El alelo de inserción es el mayoritario en nuestro estudio tanto en casos (0,694 \pm 0,021) como en controles (0,719 \pm 0,023). Mediante el cálculo del estadístico t_s no se observan diferencias significativas entre ambas frecuencias. En la muestra de controles las frecuencias genotípicas observadas no se diferencian significativamente de las esperadas asumiendo equilibrio Hardy-Weinberg. Las frecuencias de la inserción en Europa (0,678) y, más concretamente, en España (0,720) son muy similares a las estimadas en la muestra de controles de este estudio (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

Tabla 34. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs3783553).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
Ins/Ins	117 (48,35)	100 (52,08)	Ins	0,694 \pm 0,021	0,719 \pm 0,023
Ins/Del	102 (42,15)	76 (39,58)			
Del/Del	23 (9,50)	16 (8,33)	Del	0,306 \pm 0,021	0,281 \pm 0,023
\hat{h}				0,426 \pm 0,023	0,406 \pm 0,028
Eq. H-W χ^2 (p)					0,084 (0,774)
Estadístico t_s (p)			0,788 (0,430)		

Frec.: Frecuencias alélicas; s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 35 se detallan los OR calculados a partir del análisis general de la muestra según diferentes modelos genéticos. A partir de estos resultados se puede establecer un patrón de comportamiento en la relación entre el polimorfismo y el desarrollo de PCa. Así, el alelo de la delección se asocia con un mayor riesgo que el alelo de la inserción. Este efecto es similar tanto en el grupo de portadores de una como dos copias de la delección, aunque ligeramente mayor en el caso del homocigoto.

Tabla 35. Modelos genéticos OR (rs3783553).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
(Del/Del+Ins/Del)/(Ins/Ins)	1,161 (0,795-1,697)	0,598	0,439
(Del/Del)/(Ins/Ins+Ins/Del)	1,155 (0,592-2,254)	0,179	0,672
Alélico			
Del/Ins	1,126 (0,838-1,512)	0,620	0,431
Sobredominante			
(Ins/Del)/(Del/Del+Ins/Ins)	1,112 (0,755-1,636)	0,291	0,589
Codominante			
(Del/Del)/(Ins/Ins)	1,229 (0,615-2,455)	0,341	0,559
(Ins/del)/(Ins/Ins)	1,147 (0,769-1,711)	0,454	0,500
(Del/Del)/(Ins/Del)	1,071 (0,529-2,168)	0,037	0,848

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Por lo tanto, el análisis general muestra para el rs3783553 un comportamiento de dominancia/recesividad, siendo el alelo de la delección el dominante, ya que el riesgo asociado tanto al homocigoto como al heterocigoto son casi idénticos. Sin embargo, ninguno de los OR calculados alcanza valores estadísticamente significativos.

La ausencia de asociación significativa entre el genotipo del rs3783553 y el PCa en este análisis global no descarta la posibilidad de que en algún subgrupo de la muestra este polimorfismo pueda afectar de manera significativa a la probabilidad de desarrollar dicha patología. Por ello resulta de gran interés realizar análisis estratificados en función de diversas variables que puedan desvelar interacciones que pasen desapercibidas en un análisis general. El modelo que mejor representa la relación entre el polimorfismo y el desarrollo del PCa en el análisis general no tiene por qué mantenerse en los análisis estratificados. Por ello, en dichos análisis (Tabla 36) se aplica el modelo más informativo, correspondiente al denominado modelo codominante.

Tabla 36. Estratificación por variables (rs3783553).

(Del/Del)/(Ins/Ins)					(Del/Del)/(Ins/Del)	
Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)	
Edad (años)						
< 65	107	61	1,707 (0,434-6,711)	0,592 (0,442)	1,875 (0,466-7,546)	0,793 (0,373)
65 - 69	67	40	3,111 (0,624-15,512)	1,951 (0,162)	2,125 (0,410-11,001)	0,821 (0,365)
≥ 70	65	88	0,630 (0,199-1,999)	0,621 (0,431)	0,533 (0,166-1,707)	1,137 (0,286)
Tabaquismo (pack-years)						
No fumadores	71	58	0,669 (0,214-2,091)	0,484 (0,486)	0,465 (0,211-2,130)	0,465 (0,495)
> 0 - 15	42	41	6,136 (0,815-46,20)	3,160 (0,075)	4,444 (0,527-37,496)	1,928 (0,165)
> 15 - < 31	49	19	3,208 (0,378-27,458)	1,160 (0,281)	2,722 (0,290-25,535)	0,793 (0,373)
≥31	78	74	0,498 (0,135-1,831)	1,114 (0,291)	0,539 (0,145-2,001)	0,864 (0,352)
IMC						
< 28	57	55	1,360 (0,330-5,606)	0,184 (0,668)	1,440 (0,352-5,895)	0,260 (0,610)
28 - 30	55	30	0,581 (0,152-2,218)	0,643 (0,423)	0,667 (0,159-2,788)	0,316 (0,574)
> 30	62	53	1,352 (0,381-4,795)	0,221 (0,638)	1,077 (0,294-3,945)	0,013 (0,910)

En el rango de edad entre 65 y 69 años el riesgo asociado al genotipo Del/Del ha sido el mayor obtenido en el análisis de esta variable ($OR_{(Del/Del)/(Ins/Ins)} = 3,111$; $p = 0,162$). En edades elevadas los efectos de los tres genotipos tienden a la neutralidad, tal y como se muestra en la figura 1. En general los efectos del genotipo Ins/Ins e Ins/Del son similares, obteniéndose OR cercanos a 1 (Fig. 58), aunque en el intervalo entre 65 y 69 años se observa un mayor efecto de riesgo del homocigoto con respecto al heterocigoto ($OR = 3,111$ versus $OR = 2,125$). En todo caso, hay que tener en cuenta que ninguno de los OR obtenidos alcanza significación estadística.

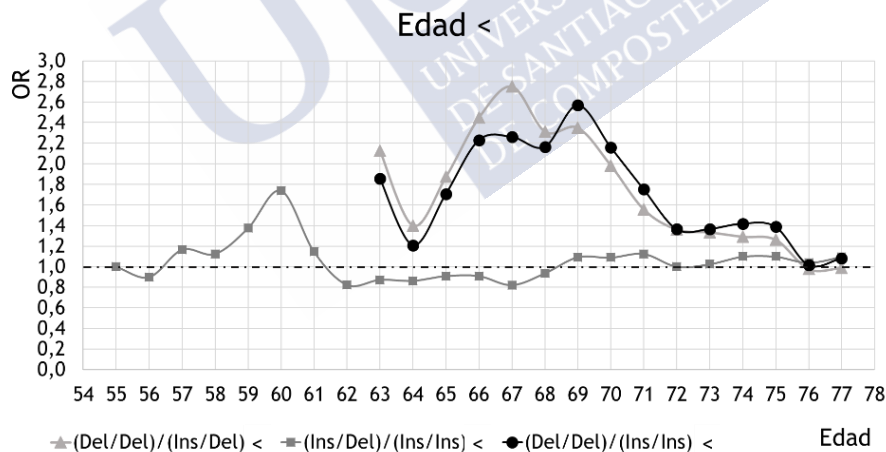


Figura 58. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs3783553).

El análisis realizado con la variable de consumo tabáquico muestra valores de OR estadísticamente significativos para consumo de tabaco por debajo de 30 *pack-years* ($OR_{(Del/Del)/(Ins/Ins)} = 8,333$; $p = 0,022$). Para el grupo de individuos no fumadores, así como para varones con consumo tabáquico elevado (más de 31 PY) se observan OR de riesgo no significativo para el genotipo Ins/Ins, tal y como se muestra en la tabla 3. En varones fumadores con consumo tabáquico bajo (hasta 15 PY) se alcanzan valores de OR de hasta 6,136 ($p = 0,075$). Para esta variable cada uno de los tres genotipos posibles tienen un efecto diferente sobre el desarrollo de PCa (Fig. 59).

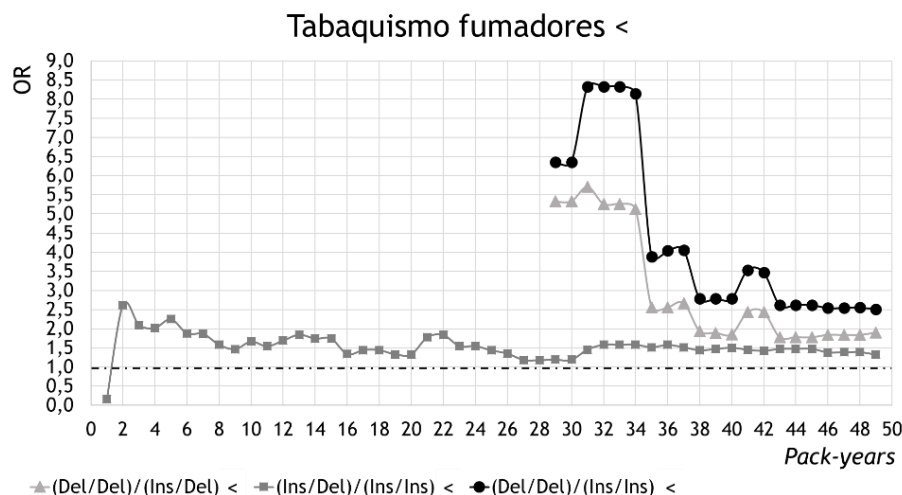


Figura 59. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (pack-years) (rs3783553).

En el caso del IMC se observa un leve efecto de riesgo en los individuos con genotipo Del/Del para valores por debajo de 28 y por encima de 30 (Tabla 3). En cambio, para valores intermedios (28-30) el genotipo Ins/Ins es el que manifiesta efecto de riesgo respecto al desarrollo de PCa. De todas maneras, hay que señalar que en este caso los valores de OR son claramente no significativos.

3.2.2. INTERLEUQUINA 1B – rs16944.

Para este polimorfismo el alelo mayoritario es el G, tanto en casos ($0,660 \pm 0,021$) como en controles ($0,702 \pm 0,023$). Mediante el cálculo del estadístico t_s no se observan diferencias significativas entre ambas frecuencias. En la muestra de controles las frecuencias genotípicas observadas no se diferencian significativamente de las esperadas asumiendo equilibrio Hardy-Weinberg. Las frecuencias del alelo G en Europa ($0,650$) y, más concretamente, en España ($0,673$) son similares a las estimadas en la muestra de este estudio (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015), aunque están más próximas a las de los casos que a los controles (Tabla 37).

Tabla 37. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs16944).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
A/A	28 (11,52)	18 (9,42)	A	$0,340 \pm 0,021$	$0,298 \pm 0,023$
A/G	109 (44,86)	78 (40,84)			
G/G	106 (43,62)	95 (49,74)	G	$0,660 \pm 0,021$	$0,702 \pm 0,023$
\hat{h}				$0,450 \pm 0,020$	$0,509 \pm 0,046$
Eq. H-W χ^2 (p)					$0,117$ (0,733)
Estadístico t_s (p)			$1,289$ (0,197)		

Frec.: Frecuencias alélicas; s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad inesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 38 se detallan los OR calculados a partir del análisis general de la muestra según diferentes modelos genéticos, con los que se pretende establecer un patrón de comportamiento en la relación entre el rs16944 y el desarrollo de PCa. De estos resultados se concluye que el alelo A, considerado ancestral según las bases de datos disponibles, manifiesta mayor riesgo que el alelo mayoritario G.

Tabla 38. Modelos genéticos OR (rs16944).

Modelo genético	OR (IC 95%)	x ²	p
Dominante/recesivo			
AA/GG+AG	1,252 (0,670-2,338)	0,497	0,481
AA+AG/GG	1,279 (0,874-1,871)	1,609	0,204
Alélico			
A/G	1,208 (0,905-1,613)	1,655	0,198
Sobredominante			
AG/AA+GG	1,178 (0,803-1,730)	0,704	0,401
Codominante			
AA/GG	1,394 (0,725-2,679)	0,998	0,318
AA/AG	1,113 (0,575-2,155)	0,101	0,750
AG/GG	1,252 (0,838-1,872)	1,209	0,272

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

El análisis general muestra un comportamiento de codominancia ya que, aunque tanto el genotipo AA como el heterocigoto AG ejercen efecto de riesgo sobre el genotipo GG, el efecto del homocigoto ($OR_{AA/GG} = 1,394$ $p = 0,318$) es mayor que el del heterocigoto ($OR_{AG/GG} = 1,252$ $p = 0,272$), que presenta valores intermedios.

En ocasiones el modelo representativo del comportamiento de la relación entre el polimorfismo y el desarrollo del PCa no está claro en el análisis general cuando se obtienen resultados semejantes en varios modelos. Por añadidura, el modelo con mejor ajuste en ese apartado del análisis no tiene por qué mantenerse al aplicar la estratificación. Así, como hemos comentado anteriormente, en estos análisis se aplica el modelo más informativo, correspondiente al denominado modelo codominante (Tabla 39).

Tabla 39. Estratificación por variables (rs16944).

		AA/GG			AG/GG	
	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)
Edad (años)						
≤ 65	123	66	1,019 (0,343-3,029)	0,001 (0,973)	0,895 (0,476-1,685)	0,118 (0,731)
65 - 69	67	40	1,500 (0,429-5,239)	0,411 (0,521)	1,889 (0,808-4,418)	2,176 (0,140)
≥ 70	65	88	1,714 (0,567-5,184)	0,921 (0,337)	1,136 (0,571-2,261)	0,136 (0,715)
Tabaquismo (pack-years)						
No fumadores	73	58	1,333 (0,421-4,219)	0,243 (0,622)	0,943 (0,450-1,975)	0,024 (0,875)
> 0 - < 10	28	32	0,667 (0,096-4,612)	0,175 (0,675)	1,417 (0,467-4,299)	0,385 (0,535)
10 - 25	40	15	2,368 (0,244-22,970)	0,570 (0,450)	1,516 (0,418-5,501)	0,408 (0,523)
> 25 - 40	35	21	0,868 (0,122-6,192)	0,020 (0,886)	0,941 (0,294-3,011)	0,011 (0,917)
> 40	57	52	0,859 (0,206-3,575)	0,044 (0,833)	1,551 (0,697-3,452)	1,170 (0,279)
IMC						
< 28	107	55	1,591 (0,549-4,607)	0,740 (0,390)	1,758 (0,870-3,554)	2,489 (0,115)
≥ 28	119	82	0,731 (0,286-1,865)	0,435 (0,510)	1,240 (0,680-2,262)	0,495 (0,482)

Estos análisis no detectaron evidencia de asociación significativa para ninguno de los grupos establecidos a partir de las tres variables de estratificación.

En un rango intermedio de edad, entre 65 y 69 años, el genotipo AA manifiesta un efecto de riesgo ($OR_{AA/GG} = 1,500$ $p = 0,411$) que seguirá aumentando a medida que se incrementa la edad analizada (Fig. 60). El genotipo AG manifiesta riesgo relativamente elevado únicamente en este intervalo intermedio ($OR_{AG/GG} = 1,889$ $p = 0,140$), alcanzando el valor más alto de OR para esta variable. La relación entre los tres genotipos es neutra cuando se trata con el conjunto de la muestra, sin embargo, se van alejando de OR cercanos a 1 a medida que se trabaja con una muestra con edades cada vez mayores (sobre todo a partir de 72 años), tal y como se puede observar en la figura 60.

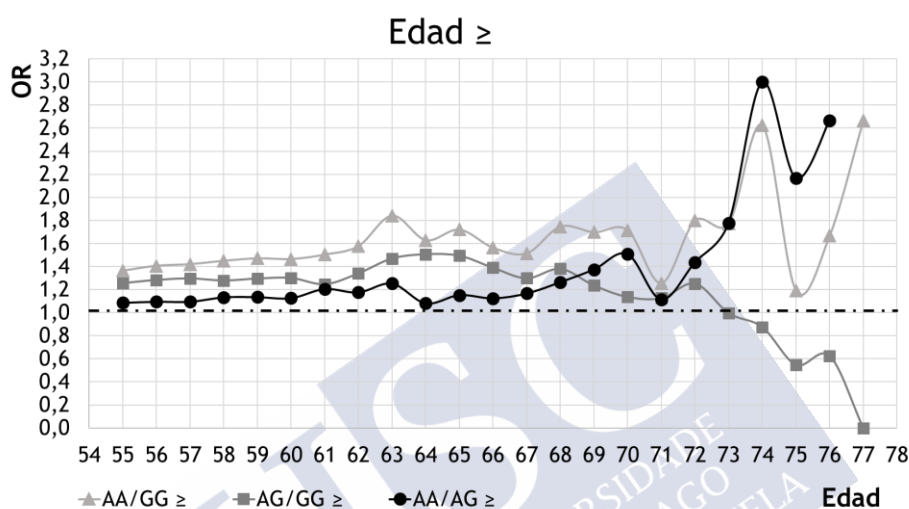


Figura 60. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs16944).

El análisis realizado utilizando el consumo tabáquico muestra un comportamiento variable de los genotipos de riesgo, tal como manifiestan los resultados de la tabla 3, siempre teniendo en cuenta que los OR obtenidos son claramente no significativos. Para consumo reducido el efecto del genotipo heterocigoto sobre cualquiera de los homocigotos es de riesgo, mientras que el homocigoto AA ejerce efecto protector sobre el GG ($OR = 0,667$; $p = 0,675$). En cambio, para consumo intermedio, entre 10 y 25 PY el genotipo AA pasa a ejercer efecto de riesgo ($OR = 2,368$; $p = 0,450$). En el rango de consumo de tabaco elevado el genotipo AA pasa a tener OR cercanos a 1 al compararlo con el genotipo GG ($OR = 0,859$; $p = 0,833$), mientras que el heterocigoto vuelve a manifestar riesgo ($OR = 1,551$; $p = 0,270$). La variación en los patrones de comportamiento de los tres genotipos se muestra conjuntamente en la figura 61, en la que al tenerse en cuenta valores de consumo mayores los efectos manifestados por los distintos genotipos se van distanciando.

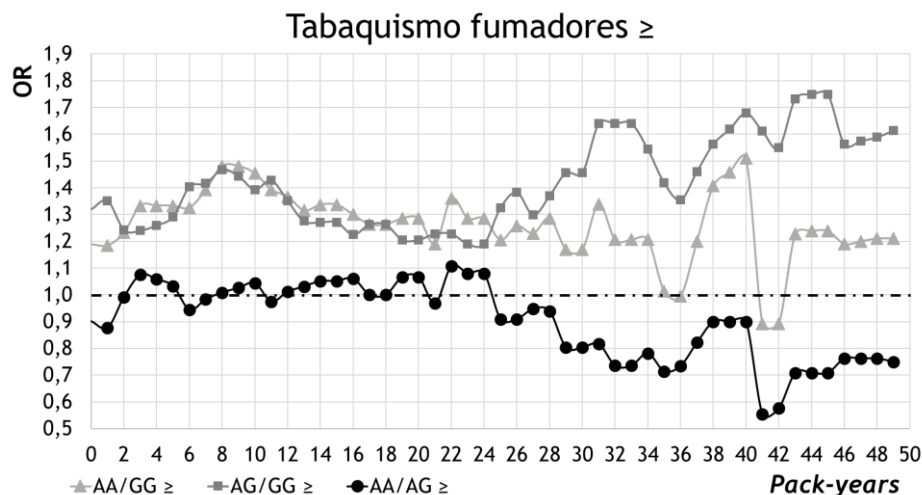


Figura 61. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (*pack-years*) (rs16944).

Para el IMC (Tabla 39) se observa un efecto de riesgo no significativo en el genotipo AG comparándolo con cualquiera de los dos homocigotos ($IMC < 28$ $OR_{AG/GG} = 1,758$; $p = 0,115$. $IMC \geq 28$ $OR_{AG/GG} = 1,240$; $p = 0,482$). Por otro lado, se observan OR más elevados en el grupo de individuos con IMC menor de 28. Para valores por encima de 27 hay un punto de convergencia entre los efectos de los genotipos, alcanzando todos valores próximos a 1. A partir de 34 se produce un punto de efecto máximo de riesgo para el alelo A ($OR_{AG/GG} = 2,042$; $p = 0,392$. $OR_{AA+AG/GG} = 1,944$; $p = 0,379$) seguido de un descenso progresivo de dicho efecto (Fig. 62).

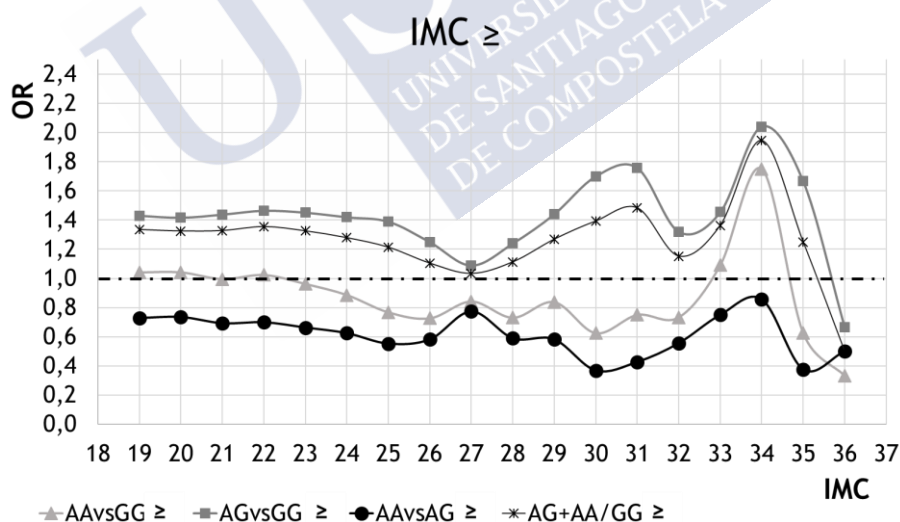


Figura 62. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs16944).

3.2.2. INTERLEUQUINA 18 – rs187238.

El alelo ancestral C es el mayoritario en nuestro estudio tanto en casos ($0,723 \pm 0,020$) como en controles ($0,701 \pm 0,023$) (Tabla 40), así como en la población mundial (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015). Mediante el cálculo del estadístico t_s no se observan

diferencias significativas entre las frecuencias de ambos alelos entre casos y controles. En la muestra de controles las frecuencias genotípicas observadas no se diferencian significativamente de las esperadas asumiendo equilibrio Hardy-Weinberg. Las frecuencias del alelo C en Europa (0,722) y, más concretamente, en España (0,706) son muy similares a las observadas en la muestra de controles de este estudio.

Tabla 40. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs187238).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
CC	125 (51,65)	94 (48,96)	C	0,723 \pm 0,020	0,701 \pm 0,023
CG	100 (41,32)	81 (42,19)			
GG	17 (7,025)	17 (8,85)	G	0,277 \pm 0,020	0,299 \pm 0,023
\hat{h}				0,402 \pm 0,026	0,422 \pm 0,027
Eq. H-W χ^2 (p)					0,006 (0,944)
Estadístico t_s (p)			0,731 (0,298)		

Frec.: Frecuencias alélicas; s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad insesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 41 se detallan los OR calculados a partir del análisis general de la muestra según diferentes modelos genéticos. A partir de estos resultados se puede establecer un patrón de comportamiento en la relación entre el polimorfismo y el desarrollo de PCa. Así, los genotipos CC y CG tendrían un efecto de riesgo semejante respecto al efecto protector que se observaría en el genotipo GG.

Tabla 41. Modelos genéticos OR (rs187238).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
CC+CG/GG	1,286 (0,638-2,589)	0,496	0,481
GG+CG/CC	0,898 (0,614-1,312)	0,311	0,577
Alélico			
G/C	0,896 (0,666-1,204)	0,535	0,464
Sobredominante			
GG+CC/CG	1,036 (0,705-1,523)	0,033	0,856
Codominante			
CC/GG	1,330 (0,645-2,741)	0,599	0,439
CG/GG	1,235 (0,592-2,573)	0,318	0,573
CC/CG	1,077 (0,724-1,602)	0,135	0,714

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

El modelo que mejor representaría este comportamiento es el dominante/recesivo, ya que el riesgo asociado a los genotipos CC y CG es similar cuando se compara con el genotipo GG ($OR_{CC/GG} = 1,330$; $p = 0,439$. $OR_{CG/GG} = 1,235$; $p = 0,573$). Sin embargo, ninguno de los OR calculados en este análisis general alcanza valores estadísticamente significativos.

Hay que tener en cuenta que el modelo que mejor explica la relación entre el polimorfismo y el desarrollo de la patología no tiene por qué ser el mismo en el análisis general y en los análisis estratificados. Por lo tanto, de manera general, en estos últimos se ha aplicado el modelo codominante por ser el más informativo. En los análisis de estratificación (Tabla 42) se han

calculado los OR en base al modelo codominante asumiendo como variante de riesgo el alelo C, tal y como se observaba en el análisis general.

Tabla 42. Estratificación por variables (rs187238).

CG/GG					CC/GG	
Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)	
Edad (años)						
< 63	84	45	2,083 (0,549-7,906)	1,183 (0,277)	1,378 (0,380-4,993)	0,241 (0,623)
63 - 68	76	48	0,549 (0,130-2,314)	0,679 (0,410)	0,464 (0,117-1,845)	1,203 (0,273)
≥ 69	79	96	3,187 (0,687-14,789)	2,216 (0,137)	4,961 (1,131-21,763)	4,558 (0,033)
Tabaquismo (pack-years)						
No fumadores	71	59	1,667 (0,424-6,551)	0,543 (0,461)	2,135 (0,554-8,230)	1,230 (0,267)
> 0 - < 15	38	37	2,444 (0,513-11,643)	1,298 (0,255)	3,765 (0,907-15,663)	3,396 (0,065)
15 - 30	49	19	2,095 (0,289-15,204)	0,551 (0,458)	1,600 (0,228-11,228)	0,229 (0,632)
> 30	78	74	0,134 (0,020-0,897)	4,354 (0,037)	0,143 (0,021-0,948)	4,110 (0,043)
IMC						
< 25	38	20	0,650 (0,500-8,527)	0,112 (0,738)	1,278 (0,099-16,412)	0,036 (0,849)
25 - 30	124	65	2,409 (0,854-6,798)	2,79 (0,095)	1,824 (0,664-5,005)	1,372 (0,241)
> 30	62	53	0,557 (0,121-2,561)	0,574 (0,448)	0,845 (0,181-3,958)	0,046 (0,830)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

En el análisis de estratificación por edad se observan valores más elevados de OR en el grupo de individuos más jóvenes y sobre todo en el de individuos de edad más avanzada, donde llegan a alcanzar significación estadística ($OR_{CC/GG} = 4,961$; $p = 0,033$). Sin embargo, entre 63 y 68 años los valores de OR son menores que 1 ($OR_{CG/GG} = 0,549$; $p = 0,410$. $OR_{CC/GG} = 0,464$; $p = 0,273$), lo que indicaría que en este intervalo de edad sería el alelo G el asociado a un mayor riesgo a desarrollar cáncer. Por otra parte, en la figura 63 se observan valores de OR muy cercanos a 1 hasta los 63 años, que aumentan rápidamente desde ese punto, alcanzando el valor máximo a partir de 69 años. Sin embargo, el efecto de ambos genotipos portadores del alelo C se diferencia a medida que aumenta la edad, observándose un mayor incremento del riesgo vinculado al genotipo CC, lo que en este caso implicaría un modelo de asociación codominante.

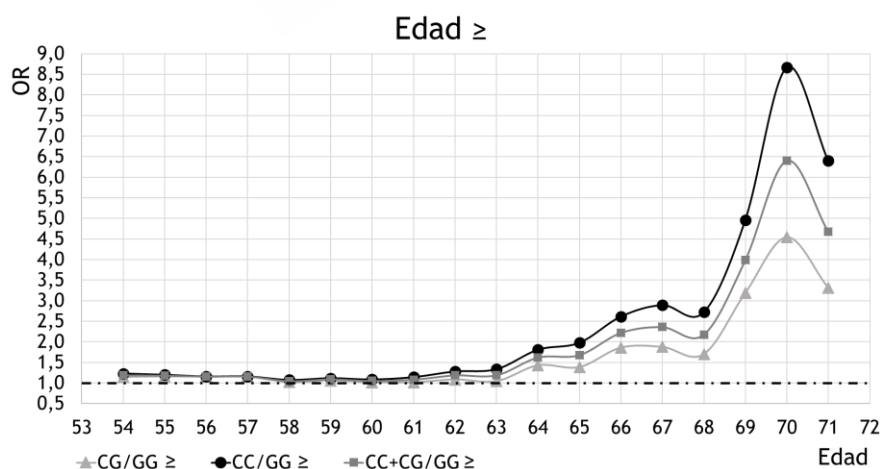


Figura 63. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs187238).

El análisis utilizando como variable los niveles de tabaquismo muestra valores de OR estadísticamente significativos para consumo tabáquico elevado e intermedio. En la primera parte del análisis (Tabla 42) se observan OR de riesgo para los genotipos CC y CG entre valores de tabaquismo de 0 - 30 PY, siendo mayores en el intervalo entre 0 y 15 PY ($OR_{CG/GG} = 2,444$; $p = 0,255$. $OR_{CC/GG} = 3,765$; $p = 0,065$), aunque como se señala en la tabla 4, el nivel máximo de riesgo se observa en el grupo de individuos con consumo menor de 19 PY ($OR_{CG/GG} = 4,61$; $p = 0,034$. $OR_{CC/GG} = 5,93$; $p = 0,008$). Sin embargo, tal y como se observa en la tabla 3, en el grupo de individuos con consumo mayor de 30 PY el efecto del alelo C pasa a ser protector con resultados estadísticamente significativos ($OR_{CG/GG} = 0,134$; $p = 0,037$. $OR_{CC/GG} = 0,143$; $p = 0,043$). Debido a ello se realizó un análisis más pormenorizado en el que se observa que este cambio de efecto del alelo C ocurre en valores de consumo notablemente menores, concretamente a partir de 16 PY ($OR_{CG/GG} = 0,133$; $p = 0,030$. $OR_{CC/GG} = 0,124$; $p = 0,023$) (Tabla 43).

Tabla 43. Análisis de asociación en diferentes grupos de consumo tabáquico (rs187238).

Tabaquismo	Casos Controles		CG/GG		CC/GG	
			OR (IC 95%)	χ^2 (p)	OR (IC 95%)	χ^2 (p)
≥ 16 PY	123	89	0,133 (0,021-0,833)	4,694 (0,030)	0,124 (0,021-0,754)	5,184 (0,023)
≥ 19 PY	114	89	0,123 (0,020-0,757)	5,163 (0,023)	0,114 (0,019-0,680)	5,732 (0,017)
≥ 22 PY	108	84	0,151 (0,023-0,999)	3,888 (0,049)	0,15 (0,023-0,976)	3,980 (0,046)
≥ 25 PY	99	82	0,142 (0,022-0,928)	4,203 (0,040)	0,139 (0,022-0,894)	4,362 (0,037)
< 16 PY	44	41	3,590 (0,824-15,633)	2,973 (0,085)	5,00 (1,288-19,403)	5,507 (0,019)
< 19 PY	53	41	4,615 (1,104-19,293)	4,494 (0,034)	5,926 (1,569-22,382)	6,998 (0,008)
< 25 PY	68	48	3,200 (0,930-11,014)	3,466 (0,626)	3,391 (1,063-10,820)	4,312 (0,038)
< 32 PY	91	56	3,158 (1,016-9,812)	4,009 (0,045)	3,025 (1,016-9,002)	4,000 (0,046)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

Respecto al IMC, el riesgo asociado al alelo C se hace evidente en el intervalo entre 25 y 30, considerado según la OMS como intervalo de sobrepeso y que incluye la media de la muestra para esta variable. Pese a no obtenerse ningún OR estadísticamente significativo, la progresión de IMC en la muestra permite observar un patrón según el cual, en los extremos de la distribución los OR indican ausencia de asociación o incluso un efecto protector del alelo C. Sin embargo, en el intervalo de IMC intermedio los valores de OR son claramente mayores que 1 y en algunos casos relativamente cercanos al nivel de significación ($OR_{CG/GG} = 2,409$; $p = 0,095$. $OR_{CC/GG} = 1,824$; $p = 0,241$).

3.2.4. INTERLEUQUINA 6 – rs1800795.

Al llevar a cabo el análisis de frecuencias se ha observado que el alelo mayoritario de este polimorfismo en la muestra analizada es el G, tanto en casos ($0,656 \pm 0,021$) como en controles ($0,646 \pm 0,022$) y mediante el cálculo del estadístico t_s no se han observado diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de ambos grupos (Tabla 44). Por otra parte, en la muestra de controles se han estimado diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias genotípicas observadas y las esperadas asumiendo equilibrio Hardy-Weinberg ($p = 0,027$). Sin embargo, estas diferencias no son significativas cuando se aplica la corrección de Bonferroni-Sidak para comparaciones múltiples que disminuye el nivel de significación hasta

0.0051. La frecuencia del alelo G estimada en la muestra de este estudio es similar a la observada en España (0,650). Sin embargo, la media europea se encuentra ligeramente por debajo (0,584), mientras que en el resto de zonas del mundo es muy elevada, alcanzando incluso frecuencias monomórficas en África y el Este de Asia (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

Tabla 44. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs1800795).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
G/G	108 (41,23)	111 (44,94)	G	0,656 \pm 0,021	0,646 \pm 0,022
G/C	128 (48,85)	97 (39,27)			
C/C	26 (9,92)	39 (15,79)	C	0,344 \pm 0,021	0,354 \pm 0,022
\hat{h}				0,453 \pm 0,018	0,459 \pm 0,018
Eq. H-W χ^2 (p)					4,955 (0,027)
Estadístico t_s (p)			1,359 (0,719)		

Frec.: Frecuencias alélicas; s.e.: error estándar; \hat{h} : índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 45 se detallan los OR calculados a partir del análisis general de la muestra según diferentes modelos genéticos para tratar de establecer el patrón de comportamiento del SNP en relación al desarrollo de PCa. Los resultados indican que el heterocigoto es el genotipo asociado a un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.

Tabla 45. Modelos genéticos OR (rs1800795).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
GG+CG/CC	1,702 (1,005-2,881)	3,927	0,047
CC+CG/GG	1,164 (0,819-1,654)	0,717	0,397
Alélico			
G/C	1,048 (0,810-1,357)	0,129	0,719
Sobredominante			
CG/CC+GG	1,478 (1,039-2,100)	4,734	0,030
Codominante			
GG/CC	1,459 (0,832-2,560)	1,745	0,186
CG/CC	1,979 (1,133-3,458)	5,776	0,016
CG/GG	1,356 (0,933-1,971)	2,557	0,110

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

El genotipo CG muestra efecto de riesgo significativo en comparación con los dos genotipos homocigotos combinados ($OR_{CG/GG+CC} = 1,478$; $p = 0,030$), siendo significativamente mayor el riesgo sobre el genotipo CC ($OR = 1,979$; $p = 0,016$) que sobre el genotipo GG ($OR = 1,356$; $p = 0,110$). Como es de esperar dados estos resultados, el genotipo GG manifiesta a su vez un efecto de riesgo en comparación con el genotipo CC ($OR = 1,459$; $p = 0,186$), aunque en este caso el valor de OR no alcanza el nivel de significación.

A pesar de que en el análisis general se observa un efecto de riesgo significativo del genotipo heterocigoto, como se ha comentado anteriormente, el modelo de asociación que se observa a nivel general no tiene por qué coincidir con el existente al subdividir la muestra

mediante análisis de estratificación. Por ello, como se ha llevado a cabo en el resto de marcadores, el análisis de estratificación se ha realizado utilizando el modelo codominante (Tabla 46), aunque en este caso, debido a los resultados en el análisis general, también se ha añadido el modelo sobredominante (Tabla 47).

Tabla 46. Estratificación por variables (rs1800795).

	CG/CC				GG/CC	
	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)
Edad (años)						
< 60	56	54	1,173 (0,336-4,097)	0,064 (0,801)	0,680 (0,200-2,316)	0,387 (0,534)
60 - 69	139	101	2,343 (1,045-5,254)	4,303 (0,038)	1,888 (0,841-4,241)	2,387 (0,122)
≥ 70	64	89	1,833 (0,629-5,343)	1,247 (0,264)	1,464 (0,489-4,379)	0,471 (0,493)
Tabaquismo (<i>pack-years</i>)						
No fumadores	76	76	3,123 (1,015-9,606)	3,988 (0,046)	1,747 (0,542-5,634)	0,884 (0,347)
> 0 - < 21	62	64	2,423 (0,674-8,709)	1,866 (0,172)	2,328 (0,653-8,291)	1,723 (0,189)
21 - 40	54	40	2,000 (0,610-6,554)	1,335 (0,248)	0,691 (0,225-2,120)	0,425 (0,514)
> 40	64	62	1,197 (0,388-3,688)	0,099 (0,752)	1,607 (0,520-4,962)	0,690 (0,406)
IMC						
< 26	58	50	1,463 (0,465-4,601)	0,429 (0,512)	1,277 (0,378-4,318)	0,158 (0,691)
26 - 32	147	111	1,626 (0,682-3,880)	1,210 (0,271)	0,972 (0,408-2,313)	0,004 (0,948)
> 32	41	33	1,250 (0,271-5,764)	0,084 (0,772)	2,054 (0,471-8,957)	0,937 (0,333)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

Tabla 46 (continuación). Estratificación por variables según el modelo CG/GG (rs1800795).

	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X ² (p)
Edad (años)				
< 60	56	54	1,725 (0,769-3,869)	1,771 (0,183)
60 - 69	139	101	1,241 (0,712-2,164)	0,582 (0,445)
≥ 70	64	89	1,252 (0,628-2,495)	0,412 (0,521)
Tabaquismo (pack-years)				
No fumadores	76	76	1,787 (0,903-3,539)	2,797 (0,094)
> 0 - < 21	62	64	1,041 (0,496-2,186)	0,011 (0,915)
21 - 40	54	40	2,895 (1,120-7,484)	4,875 (0,027)
> 40	64	62	0,745 (0,351-1,581)	0,593 (0,441)
IMC				
< 26	58	50	1,145 (0,493-2,658)	0,101 (0,751)
26 - 32	147	111	1,674 (0,991-2,826)	3,731 (0,053)
> 32	41	33	0,609 (0,224-1,655)	0,961 (0,327)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

En el análisis estratificado según la edad, para valores por debajo de los 60 años, el genotipo heterocigoto también se asocia a mayor riesgo que el homocigoto GG ($OR_{CG/GG} = 1,725$; $p = 0,183$), pero sin embargo su efecto es muy similar al del CC ($OR_{CG/CC} = 1,173$; $p = 0,801$). Así, a diferencia de lo que ocurría en el análisis general en este rango de edad, el homocigoto GG parece protector sobre el genotipo homocigoto CC ($OR_{GG/CC} = 0,680$; $p = 0,534$), aunque con resultados no significativos. En el intervalo de edad intermedia, hasta 69 años, el patrón de

asociación vuelve a ser el mismo que el observado en el análisis general, en el que el genotipo heterocigoto manifiesta efecto significativo de riesgo sobre el homocigoto CC ($OR_{CG/CC} = 2,343$; $p = 0,038$), que se reduce considerablemente al compararlo con el genotipo GG ($OR_{CG/GG} = 1,241$; $p = 0,445$). En el último intervalo el genotipo heterocigoto continúa ejerciendo riesgo sobre ambos homocigotos, en este caso también mayor sobre el CC que sobre GG ($OR_{CG/CC} = 1,833$; $p = 0,264$. $OR_{CG/GG} = 1,252$; $p = 0,521$, respectivamente), aunque los resultados en este caso no son significativos. Ajustando más el intervalo de edad intermedia, entre 65 y 68 años, se obtienen efectos de riesgo aún mayores del genotipo CG ($OR_{CG/CC} = 4,308$; $p = 0,031$).

Tabla 47. Estratificación por variables según el modelo sobredominante CG/CC+GG (rs1800795).

	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X ² (p)
Edad (años)				
< 60	56	54	1,596 (0,740-3,442)	1,438 (0,230)
60 - 69	139	101	1,437 (0,853-2,420)	1,869 (0,172)
≥ 70	64	89	1,365 (0,715-2,604)	0,896 (0,344)
Tabaquismo (pack-years)				
No fumadores	76	76	1,996 (1,048-3,802)	4,448 (0,035)
> 0 - < 21	62	64	1,204 (0,592-2,446)	0,265 (0,607)
21 - 40	54	40	2,586 (1,065-6,277)	4,459 (0,035)
> 40	64	62	0,83 (0,410-1,682)	0,268 (0,604)
IMC				
< 26	58	50	1,231 (0,575-2,636)	0,288 (0,591)
26 - 32	147	111	1,665 (1,009-2,749)	3,995 (0,046)
> 32	41	33	0,707 (0,272-1,820)	0,533 (0,465)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

En el análisis del consumo tabáquico se observa una progresión descendente en el riesgo asociado al genotipo CG respecto al homocigoto CC, pasando de un OR estadísticamente significativo en no fumadores ($OR_{CG/CC} = 3,123$; $p = 0,046$) a un OR cercano a la neutralidad en consumo por encima de 40 PY ($OR_{CG/CC} = 1,197$; $p = 0,752$). Cuando se comparan los genotipos CG y GG la relación no es tan sencilla. En este caso, en no fumadores el heterocigoto muestra un efecto de riesgo no significativo, en el grupo de bajo consumo se observa una relación de neutralidad, en el consumo intermedio vuelve a subir el riesgo del heterocigoto hasta alcanzar valores significativos ($OR_{CG/GG} = 2,895$; $p = 0,027$) y finalmente, en el grupo de elevado consumo se invierte la relación y el genotipo de mayor riesgo pasa a ser el GG, aunque con valores no significativos. En cuanto a la relación de los genotipos homocigotos, en general, el genotipo de mayor riesgo es el GG, excepto en el grupo de consumo intermedio ($OR_{GG/CC} = 0,691$; $p = 0,514$), aunque de nuevo ninguna de estas asociaciones es significativa. En conclusión, se observa que el heterocigoto se comporta como genotipo de riesgo, sobre todo en el grupo de no fumadores y de fumadores de nivel intermedio. Esto se refleja en los valores de OR calculados según el modelo sobredominante, que presentan valores significativos en estos grupos ($OR_{CG/CC+GG} = 1,996$; $p = 0,035$. $OR_{CG/CC+GG} = 2,586$; $p = 0,035$).

En el estudio de IMC, en el grupo de individuos con sobrepeso, el genotipo CG se asocia significativamente con un mayor riesgo de desarrollar PCa respecto a los dos homocigotos ($OR_{CG/CC+GG} = 1,665$; $p = 0,046$), mientras que en el grupo de normopeso este efecto de riesgo disminuye sensiblemente con valores de asociación no significativos. Sin embargo, en el grupo de individuos con valores por encima de 32, el homocigoto GG pasa a ser el genotipo de mayor

riesgo y el heterocigoto presenta en este caso un riesgo intermedio, aunque en ambos casos los OR no son significativos. Este cambio en el genotipo de riesgo se refleja en la figura 64, donde se incrementa de manera significativa el riesgo del genotipo GG frente al CC ($\text{IMC} \geq 33$: $\text{OR}_{\text{GG/CC}} = 6,429$; $p = 0,036$) y también se observa un incremento menos acusado en el riesgo del heterocigoto frente al genotipo CC

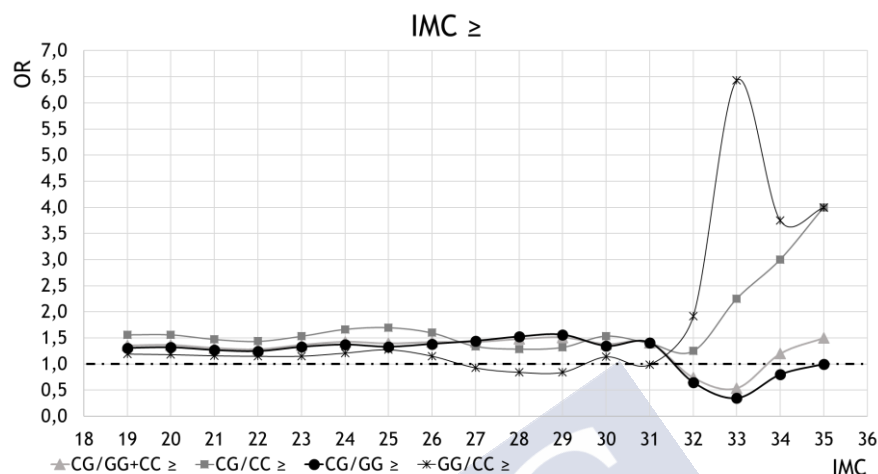


Figura 64. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs1800795).

3.2.5. INTERLEUQUINA 10 - rs1800896.

En la tabla 48 se muestra la distribución genotípica de la población estudiada, además de las frecuencias alélicas calculadas para los casos y controles. El alelo minoritario del grupo de controles es el G, tal y como sucede en la distribución mundial global de este marcador, así como en otras poblaciones, exceptuando la población británica (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015). Además, los controles se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg para el rs1800896 analizado ($p = 0,295$), y el estadístico t_s no pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas en ninguno de los dos alelos entre casos y controles ($p = 0,280$). Las frecuencias de los alelos de este marcador se distribuyen de forma muy equilibrada para la muestra, tanto en casos como controles, lo que se refleja en los elevados valores de heterocigosidad incesgada cercanos al 50%.

Tabla 48. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs1800896).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
GG	51 (19,17)	29 (14,57)	G	0,440 \pm 0,022	0,405 \pm 0,025
AG	132 (49,62)	103 (51,76)			
AA	83 (31,20)	67 (33,67)	A	0,560 \pm 0,022	0,595 \pm 0,025
\hat{h}				0,495 \pm 0,008	0,484 \pm 0,014
Eq. H-W χ^2 (p)					1,100 (0,295)
Estadístico t_s (p)			1,079 (0,280)		

Frec.: Frecuencias alélicas. s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

Mediante la aplicación de distintos modelos genéticos se ha tratado de estudiar en profundidad el comportamiento de este SNP en relación con el desarrollo de cáncer de próstata,

tal y como se muestra en la tabla 49. A primera vista se observa un efecto de riesgo provocado por el genotipo GG ($OR_{GG/AG+AA} = 1,390$; $p = 0,193$. $OR_{GG/AG} = 1,372$; $p = 0,235$. $OR_{GG/AA} = 1,420$; $p = 0,218$), aunque en ningún caso los OR obtenidos han alcanzado significación estadística. Por otra parte, los genotipos AG y AA parecen comportarse de forma similar con respecto a su efecto sobre el desarrollo del cáncer de próstata (Tabla 49), lo que sugeriría una tendencia hacia la existencia de un modelo de asociación de dominancia/recesividad, siendo G el alelo de riesgo recesivo.

Tabla 49. Modelos genéticos OR (rs1800896).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
GG/AG+AA	1,390 (0,846-2,287)	1,691	0,193
GG+AG/AA	1,119 (0,756-1,657)	0,317	0,574
Alélico			
G/A	1,156 (0,888-1,504)	1,163	0,281
Sobredominante			
AG/GG+AA	0,918 (0,635-1,326)	0,207	0,746
Codominante			
GG/AA	1,420 (0,562-3,587)	1,520	0,218
AG/AA	1,034 (0,357-3,001)	0,026	0,872
GG/GA	1,372 (0,644-2,925)	1,408	0,235

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Como ya se ha comentado anteriormente, el modelo de asociación deducido a partir del análisis global no tiene por qué coincidir con el tipo de asociación que se pueda detectar en algunos grupos de la muestra tras el análisis de estratificación. Por ello, dicho análisis se ha realizado utilizando el modelo más informativo, es decir, el codominante (Tabla 50).

Tabla 50. Estratificación por variables (rs1800896).

		GG/AG		GG/AA		
	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)
Edad (años)						
< 65	125	72	0,659 (0,318-1,365)	1,269 (0,260)	0,541 (0,247-1,186)	2,374 (0,123)
65 - 75	132	101	2,375 (1,006-5,606)	3,92 (0,048)	3,000 (1,209-7,441)	5,673 (0,017)
67 - 70	52	46	2,379 (0,685-8,263)	1,890 (0,169)	5,182 (1,389-19,328)	6,133 (0,013)
70 - 75	59	57	3,173 (1,048-9,605)	4,227 (0,040)	3,360 (0,997-11,327)	3,895 (0,048)
Tabaquismo (<i>Pack-years</i>)						
No fumadores	77	61	1,569 (0,604-4,076)	0,864 (0,353)	1,449 (0,545-3,924)	0,538 (0,463)
> 0 - 20	56	44	0,726 (0,239-2,207)	0,324 (0,569)	1,125 (0,342-3,697)	0,038 (0,845)
20 - 30	46	15	3,461 (0,625-819,15)	2,085 (0,149)	1,538 (0,227-10,413)	0,202 (0,653)
> 30	91	75	1,123 (0,465-2,713)	0,067 (0,796)	1,200 (0,454-3,173)	0,137 (0,711)
IMC						
< 27	85	49	1,905 (0,535-6,778)	1,007 (0,316)	2,116 (0,633-7,073)	1,500 (0,221)
27 - < 30	92	41	1,277 (0,466-3,494)	0,228 (0,633)	1,750 (0,593-5,167)	1,042 (0,307)
≥ 30	72	54	0,909 (0,359-2,301)	0,041 (0,840)	0,937 (0,351-2,502)	0,017 (0,897)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

Al estratificar la muestra en intervalos de edad, se obtienen riesgos asociados al genotipo homocigoto GG a partir de 65 años (65-75 años: $OR_{GG/AG}$ 2,375; $p = 0,048$. $OR_{GG/AA}$ 3,00 $p = 0,017$). Subdividiendo este intervalo, se observa que el mayor efecto de riesgo del polimorfismo aparece en el intervalo de edad entre 67 y 70 años, con un OR de GG/AA de 5,182 ($p = 0,013$) claramente superior al OR GG/AG ($OR = 2,379$; $p = 0,169$). Sin embargo, en el grupo de individuos de edad elevada, entre 70 y 75 años, se detecta un efecto similar de los genotipos AG y AA. La figura 65 muestra una progresión ascendente del riesgo asociado al genotipo GG a medida que dejan de tenerse en cuenta edades inferiores hasta llegar a los 60-64 años. A partir de ese momento el riesgo asociado al alelo G se estabiliza. A partir de 70 años el efecto de AA y AG respecto a GG es similar, tal y como se comentó anteriormente en base a los resultados obtenidos en el intervalo 70 a 75 años (Tabla 50).

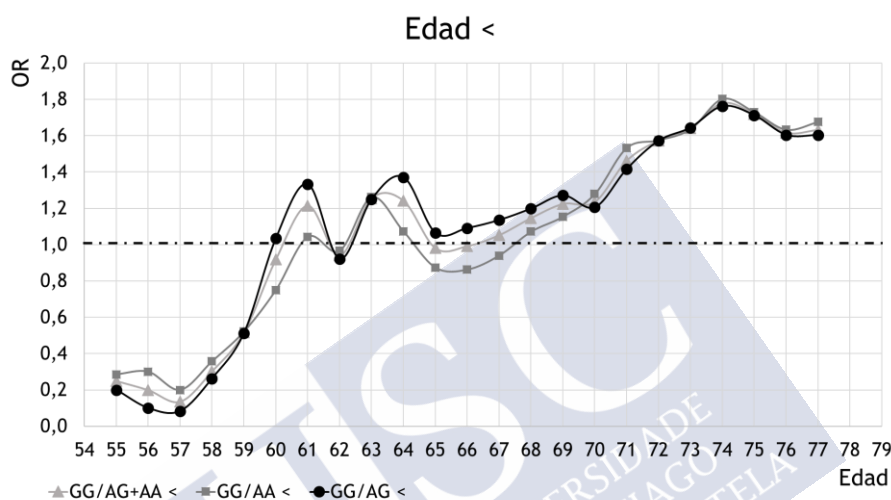


Figura 65. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs1800896).

Tal y como se observa en la tabla 3, el tabaquismo no parece mostrar asociación entre el desarrollo de PCa y el marcador estudiado, ya que ninguno de los OR calculados muestra significación estadística. De hecho, se observa que para los individuos con bajo consumo, entre 0 y 20 PY, el genotipo GG presentaría un efecto protector respecto al AG ($OR = 0,726$; $p = 0,569$), y neutro respecto al AA ($OR = 1,125$; $p = 0,845$). En cambio, entre 20 y 30 PY el genotipo homocigoto GG vuelve a manifestar efecto de riesgo, sobre todo cuando se compara con el genotipo AG ($OR = 3,461$; $p = 0,149$). A partir de 30 PY el efecto de los genotipos de este marcador tienden a la neutralidad ($OR_{GG/AG} = 1,123$; $p = 0,796$. $OR_{GG/AA} = 1,210$ $p = 0,711$). Por otra parte, tal y como se observa en la figura 66, los OR obtenidos a partir de los tres modelos genéticos analizados tienden a homogeneizarse a medida que se tienen en cuenta consumos más elevados y el riesgo de GG frente a AG se mantiene por debajo del riesgo de GG/AA durante toda la progresión del consumo tabáquico.

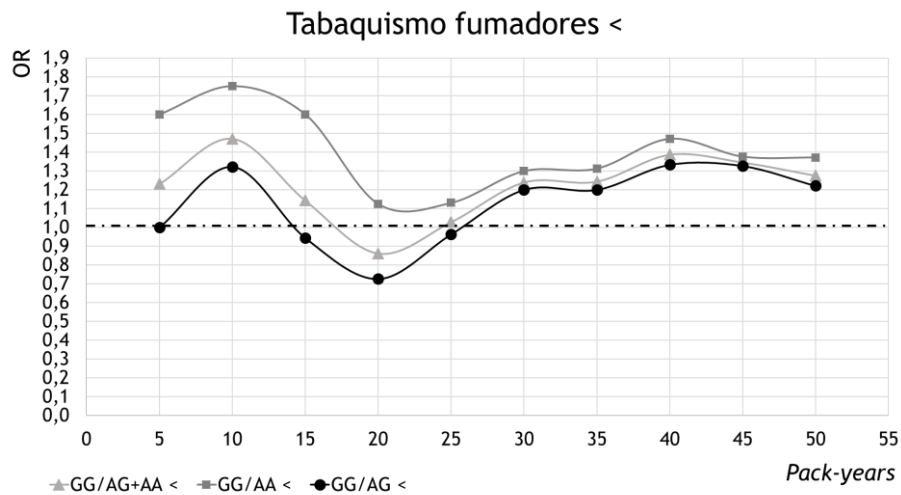


Figura 66. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (*pack-years*) (rs1800896).

En el análisis de estratificación del IMC se observa una tendencia decreciente en lo que se refiere a la visualización del riesgo de GG (Fig. 67). Dicho riesgo tiende a la neutralidad con el aumento de IMC, llegando a OR muy cercanos a 1 cuando se alcanzan valores de IMC indicativos de obesidad, concretamente a partir de 30 ($OR_{GG/AG} = 0,909$; $p = 0,84$. $OR_{GG/AA} = 0,937$ $p = 0,897$). Sin embargo, en los valores de IMC por debajo del sobrepeso, los OR muestran cierto riesgo asociado al genotipo GG especialmente por debajo de un IMC de 27 ($OR_{GG/AG} = 1,905$; $p = 0,316$. $OR_{GG/AA} = 2,116$; $p = 0,221$). De todas maneras, estas tendencias que se observan en el análisis de estratificación a partir del IMC no se asocian con valores de OR estadísticamente significativos.

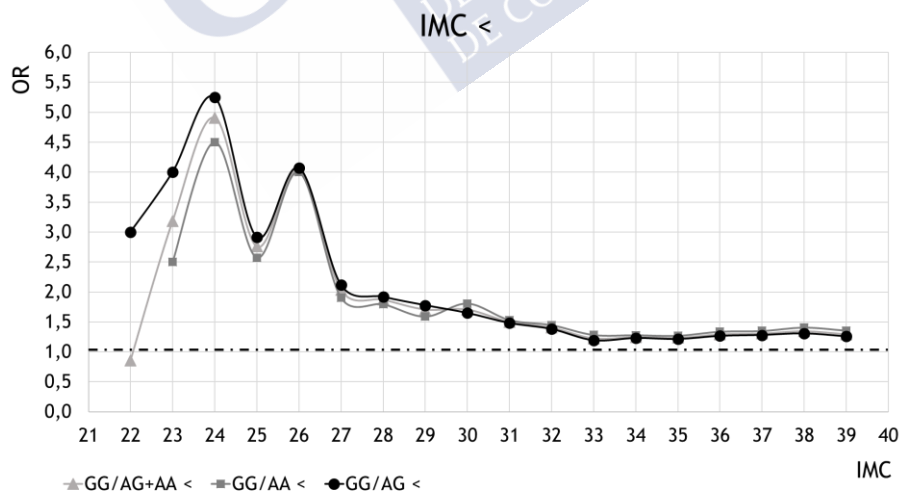


Figura 67. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs1800896).

3.2.6. INTERLEUQUINA 17A - rs2275913.

En la tabla 51 se muestra la distribución de genotipos y frecuencias alélicas de la población gallega analizada para el rs2275913 del *IL-17A*. Las frecuencias obtenidas en este estudio no muestran grandes diferencias con las observadas en otras poblaciones europeas según la base de datos 1000 Genomas (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015). La distribución de las frecuencias genotípicas de los controles se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg y el estadístico t_s no detecta diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de casos y controles.

Tabla 51. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs2275913).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Freq. \pm s.e.	Controles Freq. \pm s.e.
GG	108 (44,81)	81 (42,19)	G	0,674 \pm 0,021	0,669 \pm 0,024
AA	24 (9,96)	16 (8,33)	A	0,326 \pm 0,021	0,331 \pm 0,024
GA	109 (45,23)	95 (49,48)			
\hat{h}				0,441 \pm 0,021	0,445 \pm 0,023
Eq. H-W χ^2 (p)					2,657 (0,103)
Estadístico t_s (p)			0,156 (0,451)		

Freq.: Frecuencias alélicas; s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad insesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

Los análisis de asociación realizados mediante el cálculo de OR en el total de los individuos analizados se muestran en la tabla 52. Se ha encontrado que el hecho de ser portador del genotipo AG confiere un leve carácter protector en relación al riesgo a desarrollar PCa con respecto a cualquiera de ambos homocigotos (Tabla 52), a pesar de que en ningún caso es estadísticamente significativo. Por ello el modelo genético sobredominante ($p = 0,379$) aporta los datos más relevantes de dicho análisis.

Tabla 52. Modelos genéticos OR (rs2275913).

Modelo Genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
GG/AA+AG	1,113 (0,759-1,632)	0,299	0,584
GG+AG/AA	0,822 (0,423-1,595)	0,337	0,562
Alélico			
G/A	1,023 (0,769-1,361)	0,024	0,876
Sobredominante			
GG+AA/AG	1,186 (0,811-1,735)	0,775	0,379
Codominante			
GG/AA	0,889 (0,443-1,783)	0,110	0,740
GG/AG	1,162 (0,780-1,731)	0,546	0,460
AA/AG	1,307 (0,656-2,606)	0,582	0,446

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

El impacto de la variación genética del rs2275913 sobre el riesgo de PCa se hace más evidente cuando se abordan análisis de estratificación. Como en los casos anteriores el primer paso en el análisis de estratificación consistió en el cálculo de los OR correspondientes al modelo codominante (Tabla 53).

Tabla 53. Estratificación por variables (rs2275913).

			GG/AA		GG/AG	
	Casos	Controles	OR (IC 95%)	χ^2 (p)	OR (IC 95%)	χ^2 (p)
Edad (años)						
< 65	106	61	0,435 (0,113-1,674)	1,486 (0,228)	1,127 (0,578-2,199)	0,124 (0,725)
65 - < 75	121	87	0,940 (0,314-2,819)	0,012 (0,912)	1,301 (0,732-2,314)	0,809 (0,368)
≥ 75	11	41	1,200 (0,194-7,422)	0,040 (0,842)	6,000 (0,802-44,863)	3,118 (0,077)
Tabaquismo (<i>pack-years</i>)						
No fumadores	70	57	1,520 (0,439-5,263)	0,442 (0,506)	1,520 (0,723-3,197)	1,229 (0,268)
> 0 - < 10	28	32	2,286 (0,190-27,561)	0,437 (0,509)	1,598 (0,567-4,503)	0,799 (0,371)
10 - 32	62	24	2,083 (0,389-11,161)	0,753 (0,385)	3,795 (1,168-12,324)	4,991 (0,025)
> 32	75	74	0,456 (0,136-1,533)	1,632 (0,201)	0,584 (0,296-1,153)	2,422 (0,120)
IMC						
< 28	107	55	1,293 (0,359-4,653)	0,157 (0,692)	0,582 (0,293-1,154)	2,419 (0,120)
≥ 28	116	83	0,525 (0,176-1,571)	1,340 (0,247)	1,447 (0,797-2,626)	1,486 (0,223)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

En lo referente a la edad, la tabla 53 muestra los valores de riesgo obtenidos aplicando el modelo codominante. Entre los datos obtenidos destaca un punto de especial impacto a partir de 75 años, en el que se obtiene un elevado valor de asociación de riesgo cercano a la significación (OR = 6,00, $p = 0,077$) del homocigoto GG frente al heterocigoto, mientras que el riesgo asociado al genotipo AA es ligeramente menor. Por lo tanto, los resultados parecen sugerir una asociación de tipo sobredominante en los individuos de este grupo de edad ($OR_{AA+GG/AG} = 5,77$, $p = 0,079$) con valores de probabilidad cercanos al nivel de significación (Tabla 54). Además, se ha detectado un efecto protector estadísticamente significativo del genotipo heterocigoto en el rango entre 65 y 67 años (OR = 3,17; $p = 0,045$) para la comparación GG/AG. Una representación gráfica global de este comportamiento a medida que aumenta la edad se puede ver en la figura 68, donde se observa una pequeña meseta entre 65 y 67 años y un gran pico a partir de 75 años, tanto para el modelo codominante como para el sobredominante.

Tabla 54. Estratificación por variables según el modelo sobredominante GG+AA/AG (rs2275913).

Variables	Casos	Controles	OR (IC 95%)	χ^2 (p)
Edad				
< 65	106	61	1,30 (0,686-2,448)	0,644 (0,422)
65 - < 75	121	87	1,31 (0,755-2,284)	0,933 (0,334)
≥ 75	11	41	5,77 (0,799-41,662)	3,078 (0,079)
Tabaquismo (<i>pack-years</i>)				
No fumadores	70	57	1,42 (0,695-2,897)	0,932 (0,334)
> 0 - < 10	28	32	1,48 (0,531-4,141)	0,577 (0,448)
10 - 32	62	24	2,95 (1,088-7,994)	4,571 (0,032)
> 32	75	74	0,67 (0,349-1,273)	1,519 (0,218)
IMC				
< 28	107	55	0,56 (0,290-1,091)	2,918 (0,088)
≥ 28	116	83	1,62 (0,918-2,856)	2,784 (0,095)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

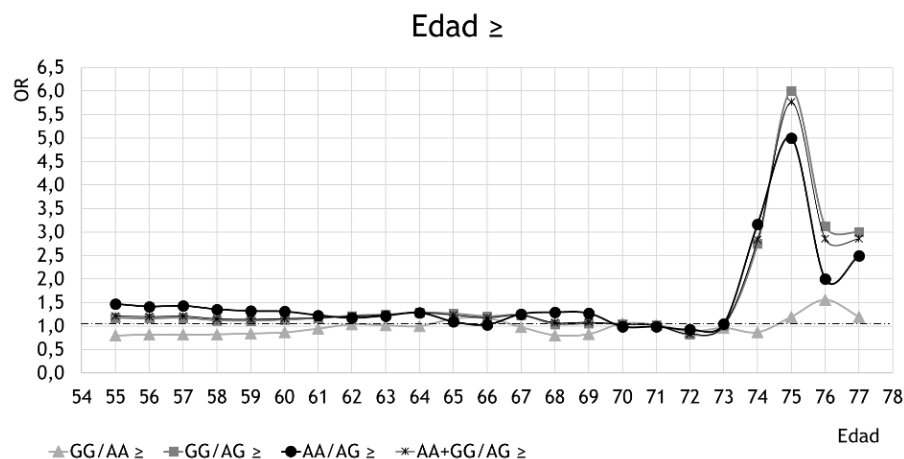


Figura 68. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs2275913).

De manera similar a lo que ocurre con la edad, en los resultados obtenidos en el análisis de estratificación utilizando datos de tabaquismo se observa un rango de consumo de entre 10 y 32 PY donde el genotipo heterocigoto muestra un efecto protector estadísticamente significativo sobre todo al compararlo con el genotipo GG ($OR_{GG/AG} = 3,79$; $p = 0,025$, $OR_{AA+GG/AG} = 2,95$; $p = 0,032$) que es el genotipo asociado a un mayor riesgo. Por lo tanto, en el intervalo entre consumo bajo y moderado se observa un efecto protector significativo del heterocigoto que no se observa por encima ni por debajo de dicho intervalo. Como se puede ver en la figura 69 se produce un incremento brusco del carácter protector del heterocigoto a partir de consumos de alrededor de 14 *pack-years*, mientras que el riesgo asociado a los dos homocigotos es muy similar a partir de este punto. Sin embargo, en los individuos con consumo por encima de 32 PY el genotipo GG se asocia con una protección máxima, aunque sin llegar a niveles significativos ($OR_{GG/AA} = 0,456$; $p = 0,201$, $OR_{GG/AG} = 0,584$; $p = 0,120$).

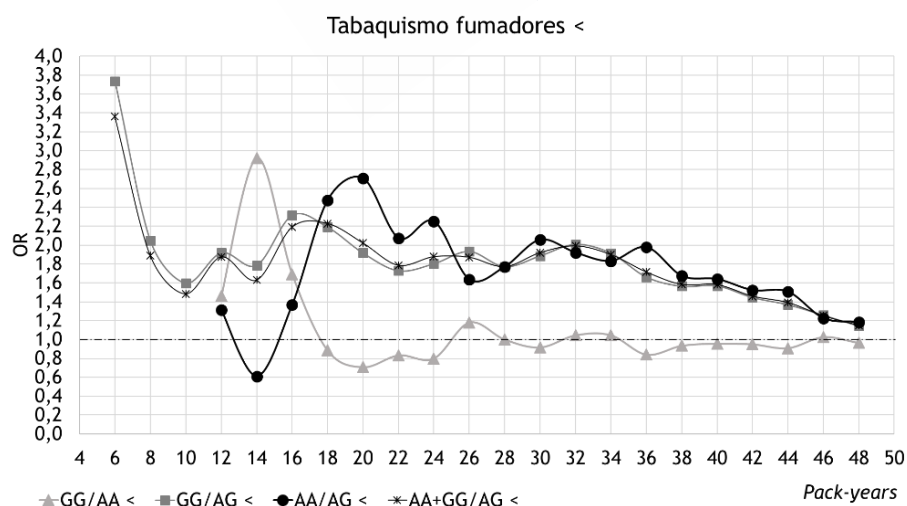


Figura 69. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (*pack-years*) (rs2275913).

En lo que se refiere a la estratificación por IMC, se observa una conexión entre la variabilidad genética del *IL-17A* y el riesgo a desarrollar PCa, con valores de OR cercanos a la significación. Por debajo de valores de 28 el genotipo heterocigoto aparece como el de mayor riesgo mientras que a partir de ese valor se empieza a observar un efecto protector del heterocigoto, sobre todo al compararlo con el genotipo AA ($OR_{AA/AG} < 28 = 1,771$; $p = 0,382$. $OR_{AA/AG} \geq 28 = 2,75$; $p = 0,061$) (Tabla 53, Fig. 70). Los mayores OR se alcanzan con valores de IMC mayores de 33 ($OR_{AA/AG} = 5,00$; $p = 0,159$. $OR_{GG/AG} = 3,50$; $p = 0,091$), aunque la disminución en el número de individuos de este grupo limita la fortaleza estadística del análisis y por ello las probabilidades se alejan del valor de significación. En ambos intervalos el genotipo GG muestra un valor de riesgo intermedio.

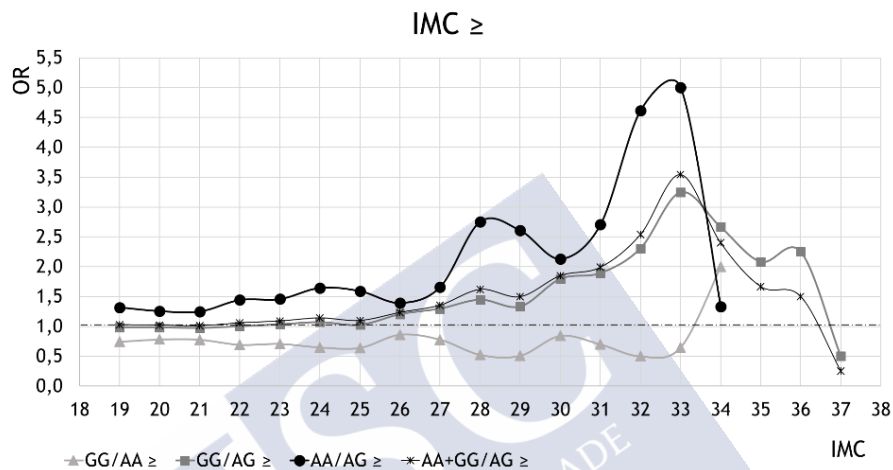


Figura 70. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs2275913).

El efecto protector del genotipo AG en los individuos con IMC mayor o igual que 28 se puede observar también en el valor de OR según el modelo sobredominante ($OR = 1,62$; $p = 0,095$). Sin embargo, como ya hemos observado anteriormente, en individuos con IMC por debajo de la media de nuestra población ($IMC = 28$) se invierte el modelo de asociación, siendo ahora el heterocigoto el genotipo de riesgo ($OR_{AA+GG/AG} = 0,56$; $p = 0,088$) con valores de probabilidad relativamente cercanos a la significación.

3.2.7. MIF - rs2070767.

El alelo ancestral C es el mayoritario en nuestro estudio tanto en casos ($0,814 \pm 0,020$) como en controles ($0,799 \pm 0,021$), así como en la población mundial. Tanto las frecuencias alélicas en Europa ($0,808$) como en España ($0,818$) son muy semejantes a la observada en esta muestra, con valores muy elevados en el alelo mayoritario (C) respecto al minoritario (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015). La muestra de controles se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg para el rs2070767 ($p = 0,139$) y el estadístico χ^2 no pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas de las frecuencias alélicas entre casos y controles ($p = 0,603$) (Tabla 55).

Tabla 55. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs2070767).

	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. ± s.e.	Controles Frec. ± s.e.
CC	128 (65,3)	124 (65,61)	C	0,814 ± 0,020	0,799 ± 0,021
CT	63 (32,14)	54 (28,57)			
TT	5 (2,55)	11 (5,82)			
\hat{h}			T	0,186 ± 0,020	0,201 ± 0,021
Eq. H-W χ^2 (p)				0,305 ± 0,035	0,323 ± 0,035
Estadístico t_s (p)					2,315 (0,139)
				0,521 (0,603)	

Frec.: Frecuencias alélicas. s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

Al igual que en el análisis de las interleuquinas, el estudio del comportamiento de este SNP y su posible relación con el desarrollo de PCa se ha llevado a cabo aplicando distintos modelos genéticos, cuyos resultados se muestran en la tabla 56. En este análisis general se observa un efecto de riesgo asociado al alelo C ($OR_{CC+CT/TT} = 2,361$; $p = 0,108$. $OR_{CC/TT} = 2,271$; $p = 0,129$. $OR_{CT/TT} = 2,567$; $p = 0,090$) no significativo, aunque los valores de probabilidad se encuentran relativamente cercanos al nivel de significación. Los genotipos CT y CC parecen comportarse de forma similar en lo que se refiere a su efecto sobre el desarrollo del cáncer de próstata, sugiriendo una tendencia hacia el modelo de asociación de dominancia/recesividad, en el que el alelo C sería el alelo de riesgo dominante.

Tabla 56. Modelos genéticos OR (rs2070767).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
CC+CT/TT	2,361 (0,827-6,740)	2,582	0,108
TT+CT/CC	1,013 (0,665-1,544)	0,004	0,950
Alélico			
C/T	1,100 (0,769-1,573)	0,271	0,602
Sobredominante			
CT/CC+TT	1,184 (0,766-1,831)	0,580	0,446
Codominante			
CC/TT	2,271 (0,785-6,570)	2,299	0,129
CT/TT	2,567 (0,860-7,661)	2,876	0,090
CT/CC	1,130 (0,728-1,755)	0,298	0,585

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

De la misma forma, tal y como se realizó en los marcadores anteriores, la estratificación se llevó a cabo según el modelo codominante por ser el más informativo en cuanto a la posible relación entre el desarrollo de PCa y el genotipo y por permitir evaluar las variaciones en el efecto de un genotipo u otro dependiendo de la edad, el consumo tabáquico y el índice de masa corporal (Tabla 57).

Tabla 57. Estratificación por variables (rs2070767).

		CC/TT		CT/TT		
Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)	
Edad (años)						
< 64	76	52	6,447 (0,918-45,272)	3,551 (0,059)	14,444 (2,103-99,206)	7,562 (0,006)
65 - 69	60	43	1,419 (0,085-23,689)	0,060 (0,806)	1,364 (0,073-25,345)	0,045 (0,832)
≥ 70	48	83	1,302 (0,234-7,245)	0,092 (0,762)	1,750 (0,310-9,878)	0,409 (0,523)
Tabaquismo (Pack-years)						
No fumadores	56	56	4,762 (0,631-35,933)*	2,317 (0,128)*	7,500 (0,952-59,055)*	3,767 (0,052)*
> 0 - 25	51	50	2,000 (0,179-22,328)	0,321 (0,571)	2,444 (0,189-31,523)	0,491 (0,484)
> 25 - 45	44	36	1,105 (0,218-5,590)*	0,015 (0,903)*	0,583 (0,084-4,063)	0,305 (0,581)
> 45	44	43	2,640 (0,269-25,905)	0,708 (0,400)	4,200 (0,447-39,481)	1,616 (0,204)
IMC						
< 27	69	45	0,392 (0,044-3,470)	0,718 (0,397)	0,321 (0,034-3,025)	1,012 (0,314)
27 - 31	84	52	8,914 (1,406-56,496)	5,450 (0,020)	16,909 (2,717-105,221)	9,383 (0,002)
> 31	41	40	0,933 (0,054-16,016)*	0,002 (0,962)*	1,250 (0,067-23,174)*	0,023 (0,879)*

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

* Se ha sumado 1 en casos y controles.

En el primer análisis de estratificación, en los valores de menor edad se observa una clara y significativa asociación entre el genotipo y el desarrollo de cáncer de próstata. Así, el genotipo heterocigoto aparece como el de mayor riesgo, con valores claramente significativos cuando se compara con el homocigoto TT (Fig. 71). Este riesgo alcanza su máximo en varones menores de 64 años ($OR_{CT/TT} = 14,444$; $p = 0,006$) (Tabla 57). En cuanto al genotipo CC, el efecto de riesgo con respecto al TT disminuye claramente, aunque con un valor cercano a la significación para este grupo de varones ($OR_{CC/TT} = 6,447$; $p = 0,059$). A partir de 65 años el riesgo que manifiestan estos genotipos portadores del alelo C prácticamente desaparece, lo que se refleja en una reducción paralela de la significación estadística de los OR (Fig. 71, Tabla 57).

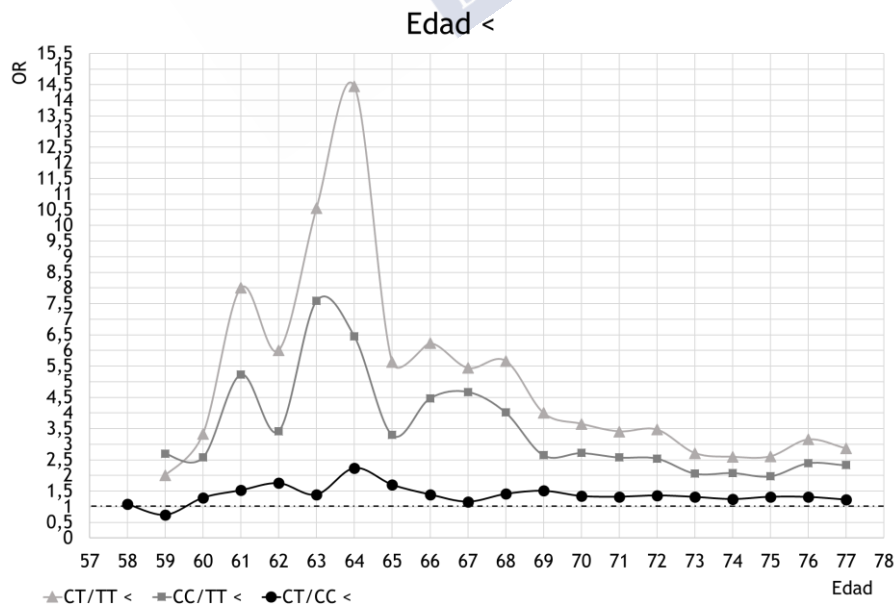


Figura 71. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs2070767).

En la estratificación llevada a cabo según el consumo tabáquico no se observa asociación estadísticamente significativa entre el desarrollo de PCa y el SNP estudiado. Sin embargo, es destacable el hecho de que en el grupo de no fumadores el alelo C manifiesta un posible efecto de riesgo respecto al genotipo TT, con valores cercanos al nivel de significación ($OR_{CC/TT} = 4,762$; $p = 0,128$. $OR_{CT/TT} = 7,500$; $p = 0,052$), que se reduce claramente para consumo bajo (Tabla 57). En el rango de consumo de tabaco intermedio, parece cambiar el efecto de estos genotipos, pasando a tener efecto neutro ambos alelos al comparar ambos homocigotos ($OR_{CC/TT} = 1,105$; $p = 0,903$) e incluso observándose un efecto protector del heterocigoto ($OR_{CT/TT} = 0,583$; $p = 0,581$). Por último, para consumo tabáquico elevado vuelve a manifestarse efecto de riesgo en individuos que portan el alelo C ($OR_{CC/TT} = 2,640$; $p = 0,400$. $OR_{CT/TT} = 4,200$; $p = 0,204$) (Fig. 72) aunque los valores de OR en ningún caso son significativos. Debe tenerse en cuenta que, en el grupo de no fumadores no hay casos de genotipo TT, por lo que los resultados obtenidos deben analizarse con precaución.

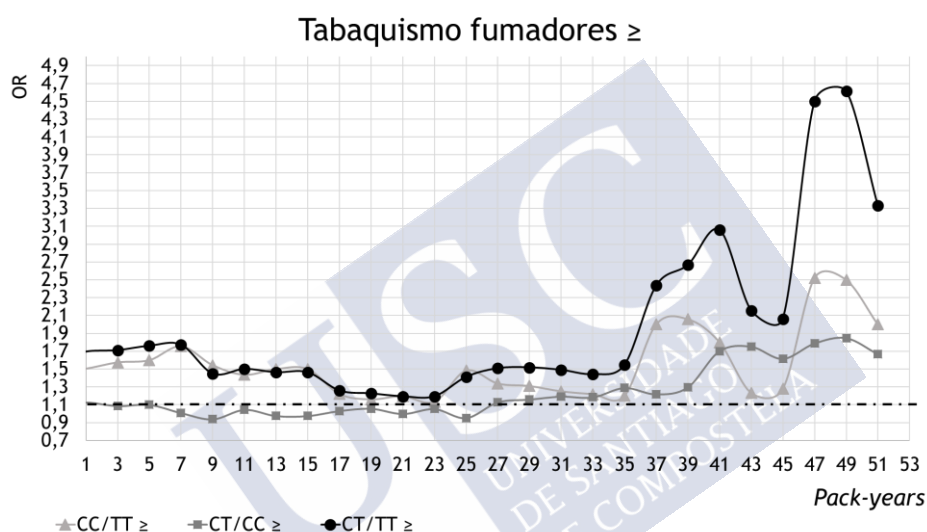


Figura 72. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (*pack-years*) (*rs2070767*).

La estratificación por índice de masa corporal muestra un patrón de aumento de riesgo para los portadores del alelo C a medida que se incrementa su IMC (Fig. 73). Para varones de bajo peso y normopeso el riesgo lo manifiesta el genotipo TT (Tabla 57), con resultados estadísticamente no significativos ($OR_{CC/TT} = 0,392$; $p = 0,397$. $OR_{CT/TT} = 0,321$; $p = 0,314$). En cambio, para individuos con sobrepeso el riesgo se asocia claramente al alelo C, aunque como ocurría en los varones de menor edad, los heterocigotos presentan un riesgo muy elevado ($OR_{CT/TT} = 16,909$; $p = 0,002$) que se reduce considerablemente en el caso de los homocigotos CC, si bien se mantienen valores de OR significativos ($OR_{CC/TT} = 8,914$; $p = 0,020$). Por último, en los individuos con obesidad parece desaparecer cualquier asociación, mostrando los 3 genotipos un riesgo similar a desarrollar la enfermedad ($OR_{CT/TT} = 1,250$; $p = 0,879$).

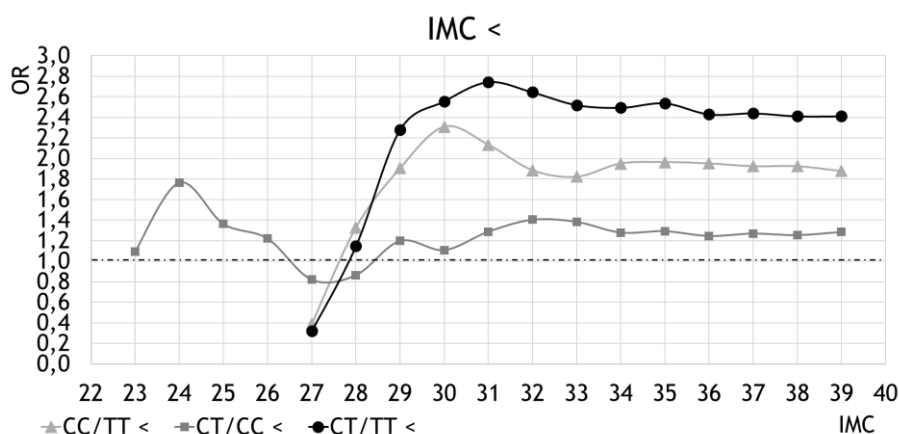


Figura 73. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs2070767).

3.2.8. TNF-A – rs1799964.

En el análisis de frecuencias se observa que el alelo mayoritario de este SNP en la muestra es el T, tanto en el grupo de los casos ($0,760 \pm 0,021$) como en el de los controles ($0,746 \pm 0,021$). Mediante el cálculo del estadístico t_s no se han observado diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de ambos grupos (Tabla 58). En cuanto a la muestra de controles, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias genotípicas observadas y esperadas según el equilibrio Hardy-Weinberg ($p = 0,706$). La frecuencia del alelo ancestral, que en este caso se corresponde con el minoritario (C), estimada en la muestra de este estudio es mayor a la observada en la población europea ($0,210$), sobre todo en el caso de la población española ($0,178$) (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015), para la que se observan diferencias significativas ($t_s = 2.292$, $p = 0.022$).

Tabla 58. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs1799964).

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
C/C	14 (7,06)	12 (54,59)	C	$0,240 \pm 0,021$	$0,258 \pm 0,022$
C/T	67 (33,84)	77 (39,29)			
T/T	117 (59,1)	107 (54,59)	T	$0,760 \pm 0,021$	$0,742 \pm 0,022$
\hat{h}				$0,366 \pm 0,032$	$0,384 \pm 0,030$
Eq. H-W χ^2 (p)					$0,143$ (0,706)
t_s				$0,576$ (0,564)	

Frec.: Frecuencias alélicas; s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 59 se muestra el análisis general de la muestra realizado mediante el cálculo de OR según diferentes modelos genéticos. De esta manera se ha establecido un patrón de comportamiento del SNP en relación al desarrollo de PCa. Ambos genotipos homocigotos parecen mostrar un efecto de riesgo similar respecto al genotipo heterocigoto (Tabla 59).

Tabla 59. Modelos genéticos OR (rs1799964).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
CC/TT+CT	1,167 (0,525-2,591)	0,144	0,367
TT/CC+CT	1,201 (0,806-1,791)	0,813	0,367
Alélico			
T/C	1,100 (0,796-1,519)	0,332	0,564
Sobredominante			
CC+TT/CT	1,265 (0,839-1,908)	1,260	0,261
Codominante			
CC/TT	1,067 (0,472-2,413)	0,024	0,876
CC/CT	1,341 (0,580-3,101)	0,473	0,492
TT/CT	1,257 (0,826-1,912)	1,141	0,285

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Lo genotipos homocigotos parecen ejercer efecto de riesgo sobre el heterocigoto, con valores semejantes, aunque ligeramente mayor en el caso del genotipo CC ($OR_{CC/CT} = 1,341$; $p = 0,492$. $OR_{TT/CT} = 1,257$; $p = 0,285$). Ninguno de los OR calculados muestra asociación estadísticamente significativa.

Se han realizado los análisis de estratificación, al igual que en los marcadores anteriores, de forma que se pueda estudiar en mayor profundidad la relación entre los efectos de los distintos genotipos en relación al desarrollo del cáncer de próstata (Tabla 60).

Tabla 60. Estratificación por variables (rs1799964).

		CC/CT		TT/CT		
	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X² (p)	OR (IC 95%)	X² (p)
Edad (años)						
< 63	67	46	0,783 (0,139-1,418)	0,079 (0,779)	1,283 (0,579-2,843)	0,382 (0,537)
63 - 69	82	60	2,826 (0,519-15,393)	1,469 (0,225)	1,908 (0,938-3,881)	3,201 (0,074)
≥ 70	48	88	1,571 (0,445-5,543)	0,501 (0,479)	0,673 (0,318-1,426)	1,075 (0,300)
Tabaquismo (pack-years)						
No fumadores	57	60	3,040 (0,336-27,522)*	0,999 (0,318)	0,548 (0,258-1,165)*	2,465 (0,116)
> 0 - 20	42	47	0,531 (0,115-2,443)	0,677 (0,411)	1,739 (0,695-4,413)	1,372 (0,241)
21 - < 40	33	24	3,000 (0,278-32,419)	0,851 (0,356)	1,583 (0,520-4,818)	0,668 (0,414)
≥ 40	64	61	4,079 (0,778-21,387)	2,815 (0,093)	2,331 (1,106-4,910)	4,998 (0,025)
IMC						
< 28	93	58	2,417 (0,446-13,089)	1,064 (0,302)	2,076 (1,049-4,110)	4,430 (0,035)
≥ 28	41	33	0,896 (0,289-2,777)	0,037 (0,848)	0,947 (0,509-1,761)	0,030 (0,863)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

* Se ha sumado 1 en casos y controles.

En individuos con edades por debajo de 63 años ambos genotipos homocigotos parecen mostrar efectos diferentes respecto al heterocigoto con valores estadísticamente no significativos, mostrando el genotipo CC un efecto de protección ($OR_{CC/CT} = 0,783$; $p = 0,779$) y el TT de riesgo ($OR_{TT/CT} = 1,283$; $p = 0,537$) (Tabla 60). Por el contrario, en el rango de edad intermedio entre 63 y 69 años ambos homocigotos muestran riesgo con valores que en algunos casos rozan la significación ($OR_{CC/CT} = 2,826$; $p = 0,225$. $OR_{TT/CT} = 1,908$; $p = 0,074$). Por

último, para varones con edad por encima de los 70 años el genotipo CC parece mostrar efecto de riesgo ($OR_{CC/CT} = 1,571$; $p = 0,479$), mientras que el genotipo TT parece manifestar protección no significativa, tal y como se observa en la figura 74.

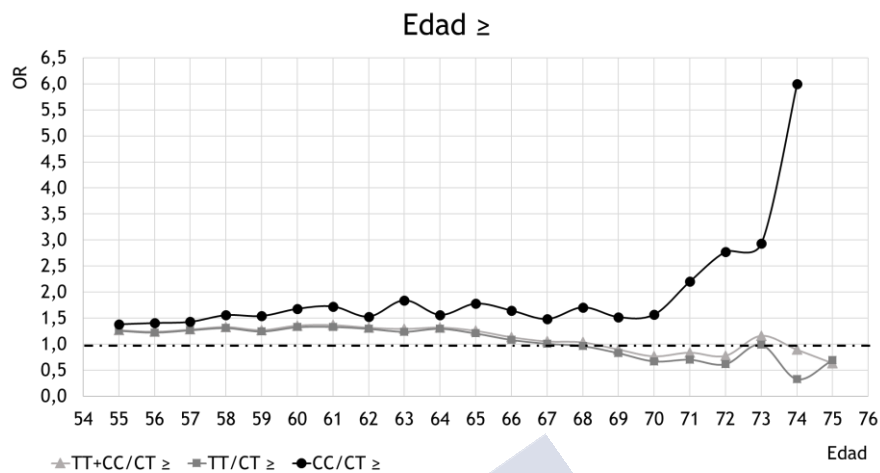


Figura 74. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs2070767).

En el análisis del consumo tabáquico, en los no fumadores, se observa efecto de riesgo del genotipo homocigoto CC frente al heterocigoto ($OR_{CC/CT} = 3,040$; $p = 0,318$), mientras que el genotipo TT pasa a tener efecto protector ($OR_{TT/CT} = 0,548$; $p = 0,116$). En los individuos fumadores con genotipo CC se muestra un efecto de riesgo cada vez mayor a medida que aumenta el consumo tabáquico (Tabla 60). Este patrón no se mantiene exactamente igual en los individuos portadores de ambos alelos T, ya que el incremento del riesgo se produciría a partir de 40 PY, de la misma forma que sucede según el modelo sobredominante (Tabla 61). En este último intervalo, a partir de 40 PY, se han obtenido OR estadísticamente significativos o cercanos a la significación, con ambos genotipos homocigotos ejerciendo efecto de riesgo (Tablas 60 y 61). La figura 75 muestra el incremento del riesgo asociado al genotipo homocigoto CC, así como la estabilidad del efecto de los individuos TT a medida que se incrementa el consumo de tabaco.

Tabla 61. Estratificación por variables según el modelo sobredominante CC+TT/CT (rs1799964).

	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X ² (p)
Edad (años)				
< 63	67	46	1,230 (0,563-2,685)	0,272 (0,602)
63 - 69	82	60	1,962 (0,974-3,951)	3,582 (0,058)
≥ 70	48	88	0,771 (0,376-1,580)	0,507 (0,476)
Tabaquismo (pack-years)				
No fumadores	57	60	0,604 (0,287-1,272)*	1,771 (0,183)
> 0 - 20	42	47	1,417 (0,576-3,481)	0,583 (0,445)
21 - < 40	33	24	1,692 (0,571-5,018)	0,916 (0,338)
≥ 40	64	61	2,447 (1,179-5,082)	5,811 (0,016)
IMC				
< 28	93	58	2,100 (1,073-4,109)	4,723 (0,030)
≥ 28	41	33	0,940 (0,513-1,723)	0,010 (0,842)

Resultados significativos en **negrita**.

* Se ha sumado 1 en casos y controles.

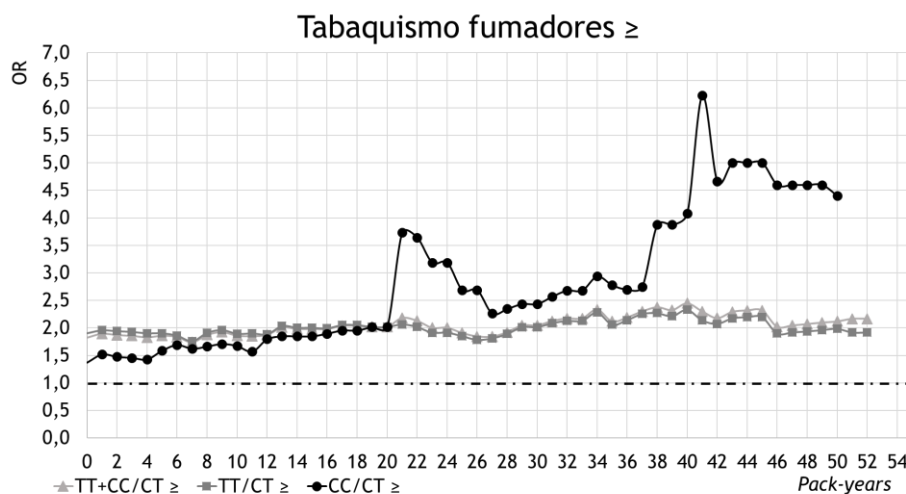


Figura 75. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (*pack-years*) (rs1799964).

En el último análisis de estratificación se observan valores de OR que determinan el carácter protector del genotipo heterocigoto para IMC por debajo de 28, es decir, por debajo de la media de la muestra en varones con genotipo homocigoto. Estos OR alcanzan significación estadística para el genotipo TT, así como para el modelo sobredominante ($OR_{TT/CT} = 2,076$; $p = 0,035$ y $OR_{CC+TT/CT} = 2,100$; $p = 0,030$). Para valores de IMC superiores a 28 los OR calculados evidencian un carácter neutro de los genotipos (próximos a 1) y valores de significación elevados (Tablas 60 y 61), tal y como se observa en la figura 76.

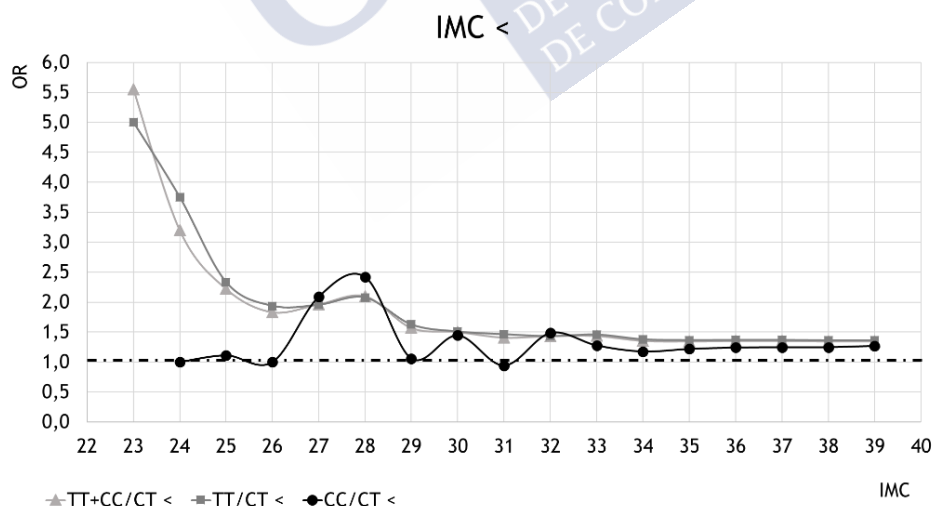


Figura 76. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs1799964).

3.2.9. XRCC1 - rs25487.

En la tabla 62 se detalla la distribución genotípica de la muestra de varones gallegos estudiada, así como las frecuencias alélicas para casos y controles. El alelo ancestral, G, es también el mayoritario tanto en el grupo de casos ($0,609 \pm 0,026$) como en el de controles ($0,616 \pm 0,026$). De la misma manera el alelo G es también el mayoritario en la población mundial, aunque en Europa aparecen las frecuencias más bajas, similares a las observadas en nuestra muestra (Sherry et al., 2001; *The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015). Los controles se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg para el rs25487 ($p = 0,479$) y el resultado obtenido mediante el cálculo del estadístico t_s no pone de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre casos y controles en ninguno de los dos alelos ($p = 0,852$).

Tabla 62. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs25487).

	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
AA	27 (15,52)	29 (16,02)	A	$0,391 \pm 0,026$	$0,384 \pm 0,026$
AG	82 (47,13)	81 (44,75)	G	$0,609 \pm 0,026$	$0,616 \pm 0,026$
GG	65 (37,36)	71 (39,23)			
\hat{h}				$0,479 \pm 0,017$	$0,476 \pm 0,017$
Eq. H-W χ^2 (p)					0,528 (0,479)
Estadístico t_s (p)			0,187 (0,852)		

Frec.: Frecuencias alélicas. s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 63 se muestran los resultados obtenidos en el análisis general mediante el cálculo de OR según distintos modelos genéticos. Los valores calculados muestran ausencia de significación estadística, con resultados de OR muy cercanos a 1. Pese a ello se podría vincular un leve efecto de riesgo al genotipo heterocigoto ($OR_{AG/AA+GG} = 1,100$; $p = 0,653$), mientras que ambos homocigotos parecen mostrar el mismo efecto ($OR_{AA/GG} = 1,017$; $p = 0,958$).

Tabla 63. Modelos genéticos OR (rs25487).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
AA+AG/GG	1,082 (0,705-1,662)	0,131	0,707
GG+AG/AA	1,039 (0,586-1,840)	0,017	0,896
Alélico			
A/G	1,029 (0,761-1,392)	0,035	0,852
Sobredominante			
AG/AA+GG	1,100 (0,724-1,672)	0,201	0,653
Codominante			
AG/AA	1,087 (0,591-1,999)	0,073	0,787
AG/GG	1,106 (0,701-1,745)	0,187	0,665
AA/GG	1,017 (0,545-1,899)	0,003	0,958

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Al igual que se ha llevado a cabo en todos los marcadores anteriores, la estratificación por edad, IMC y tabaquismo se ha realizado mediante el modelo codominante (Tabla 64).

Tabla 64. Estratificación por variables (rs25487).

			AG/AA		AG/GG	
Variables	Casos	Controles	OR (IC 95%)	X ² (p)	OR (IC 95%)	X ² (p)
Edad (años)						
< 65	73	59	0,768 (0,263-2,245)	0,235 (0,628)	1,028 (0,488-2,168)	0,005 (0,942)
65 - 70	65	51	0,812 (0,267-2,466)	0,137 (0,711)	0,848 (0,380-1,889)	0,165 (0,685)
> 70	36	69	1,615 (0,520-5,020)	0,698 (0,403)	1,673 (0,677-4,132)	1,259 (0,262)
Tabaquismo (Pack-years)						
No fumadores	48	57	1,714 (0,563-5,221)	0,914 (0,339)	1,540 (0,657-3,611)	0,998 (0,318)
> 0 - 20	66	43	1,833 (0,408-8,228)	0,638 (0,424)	1,083 (0,400-2,935)	0,025 (0,874)
> 20 - < 38	30	24	2,200 (0,460-10,526)	1,011 (0,315)	1,571 (0,441-5,596)	0,498 (0,480)
≥ 38	60	55	0,372 (0,117-1,186)	2,833 (0,092)	0,854 (0,384-1,899)	0,151 (0,697)
IMC						
< 28	81	50	0,380 (0,128-1,125)	3,086 (0,079)	1,322 (0,602-2,902)	0,488 (0,485)
≥ 28	92	79	2,420 (0,879-6,664)	2,954 (0,086)	1,024 (0,537-1,952)	0,005 (0,943)

En la estratificación por edad se observa un patrón de incremento del posible riesgo a desarrollar PCa al portar el genotipo AG, pasando de un efecto relativamente neutro e incluso protector a un incremento paulatino a partir de los 65 años (Tabla 64). Los resultados obtenidos en el último intervalo de edad (más de 70 años) muestra un efecto protector prácticamente idéntico de los dos genotipos homocigotos ($OR_{AG/AA} = 1,615$; $p = 0,403$. $OR_{AG/GG} = 1,673$; $p = 0,262$). Sin embargo, este efecto no es estadísticamente significativo en ningún caso. Por otra parte, en la figura 77 se puede observar un cambio en la tendencia del efecto para edad superior a los 71 años con un aumento en el carácter protector del genotipo AA.

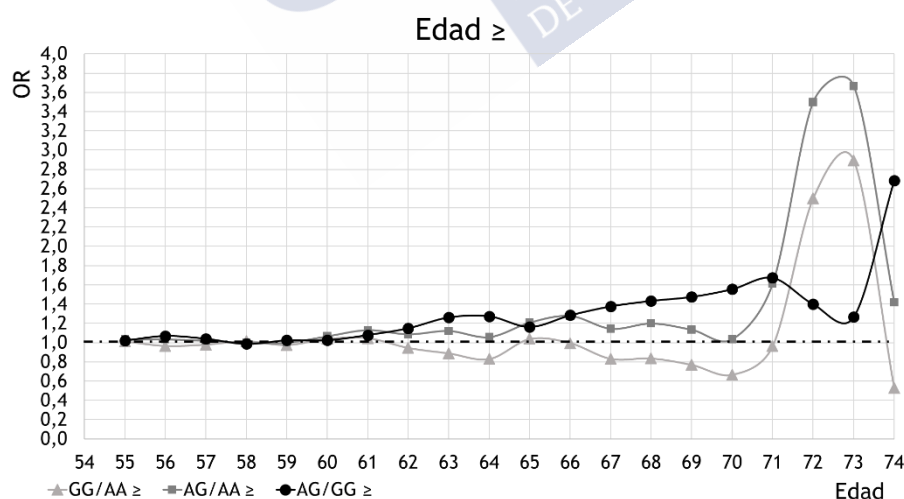


Figura 77. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (rs25487).

En la estratificación llevada a cabo según el consumo tabáquico tampoco parece mostrarse asociación entre el desarrollo de PCa y el SNP estudiado, ya que los OR calculados no muestran significación estadística. En varones con consumo tabáquico inferior a 38 *pack-years* el genotipo heterocigoto parece mostrar un posible efecto de riesgo, que deja de ser visible para tabaquismo por encima de dicho valor. El valor de OR más elevado sería el observado en el rango de consumo tabáquico entre 20 y 38 PY, siendo considerablemente superior el efecto protector observado por parte del genotipo AA ($OR_{AG/AA} = 2,200$; $p = 0,315$) en comparación al del GG ($OR_{AG/GG} = 1,571$; $p = 0,480$). A partir de 38 PY la tendencia se invierte y los homocigotos pasan a tener carácter de riesgo, sobre todo en el caso del homocigoto AA, en el que se observa un valor de OR frente al heterocigoto cercano a la significación ($OR_{AG/AA} = 0,372$; $p = 0,092$). Esto se refleja en la figura 78 donde se observa una divergencia progresiva en los resultados obtenidos a partir de 12 *pack-years*, de tal modo que los valores de OR según los modelos GG/AA y AG/AA son muy próximos entre si y cada vez más bajos, mientras que para el modelo AG/GG no se observa esta tendencia y los valores tienden a mantenerse alrededor de la neutralidad.

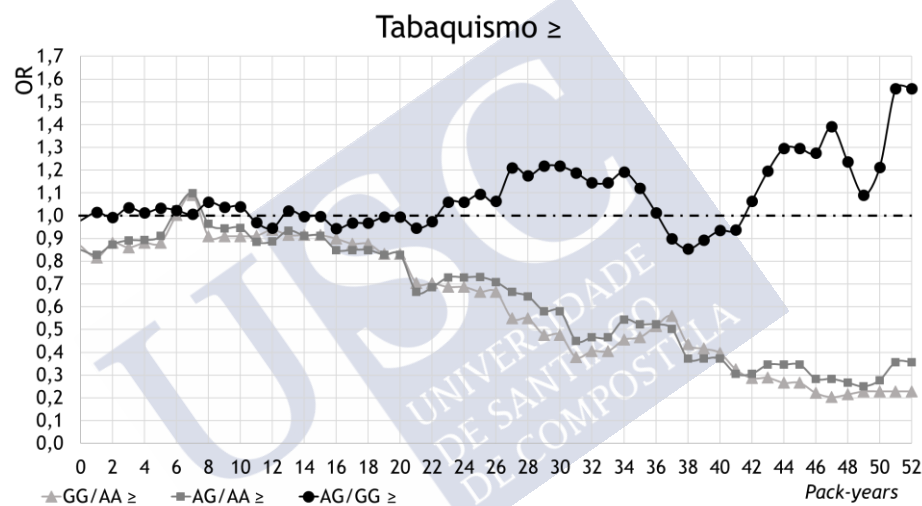


Figura 78. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (*pack-years*) (rs25487).

En el análisis del riesgo según el incremento del IMC se observa una variación entre los dos modelos genéticos analizados. En la comparación entre el heterocigoto AG y el homocigoto GG se observa una reducción del riesgo, pasando de un efecto de riesgo asociado al genotipo AG ($OR = 1,322$; $p = 0,485$) en IMC inferior a 28 a un efecto neutro del mismo ($OR = 1,024$; $p = 0,943$) en IMC por encima de este valor. En cambio, en el modelo AG/AA se pasa de un posible efecto de riesgo del genotipo AA para IMC <28 ($OR = 0,380$; $p = 0,079$) a un posible efecto protector para IMC ≥ 28 ($OR = 2,420$; $p = 0,086$). En estos dos últimos casos, los resultados obtenidos muestran valores cercanos a la significación estadística. El mayor grado de protección asociado al genotipo AA en valores elevados de IMC (a partir de 27) puede también observarse en los resultados de la figura 79.

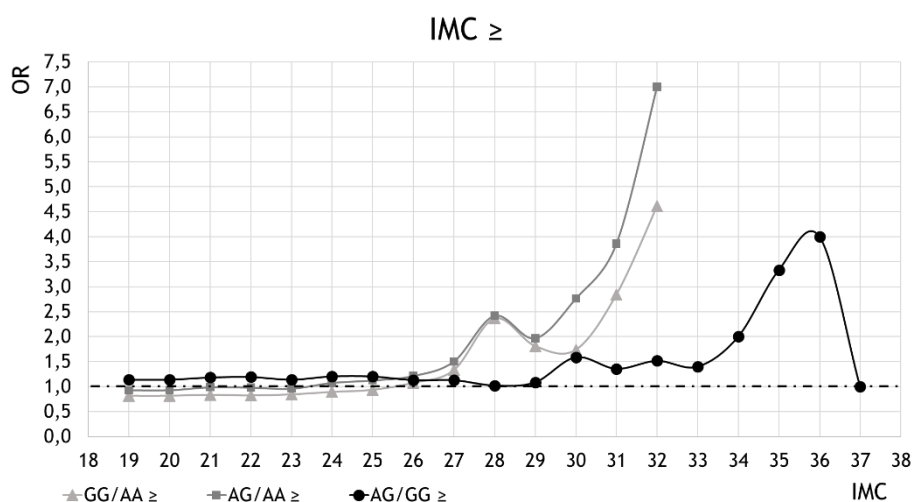


Figura 79. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs25487).

3.2.10. ERCC4 - rs744154.

El alelo G es el mayoritario en este trabajo, tanto en el grupo de los casos ($0,698 \pm 0,023$) como en el de controles ($0,670 \pm 0,024$) (Tabla 65). No se observan diferencias significativas entre ambas frecuencias mediante el cálculo del estadístico t_s ($p = 0,399$) y los controles se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg para el SNP estudiado en este apartado ($p = 0,445$). La frecuencia del alelo G obtenida en la muestra estudiada presenta un valor semejante al de la población española, aunque algo inferior al resto de poblaciones europeas y del resto del mundo (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015).

Tabla 65. Distribución genotípica y alélica de la muestra (rs744154).

	Casos (%)	Controles (%)	Alelos	Casos Frec. \pm s.e.	Controles Frec. \pm s.e.
GG	101 (51,27)	86 (43,65)	G	$0,698 \pm 0,023$	$0,670 \pm 0,024$
CG	73 (37,06)	92 (46,70)			
CC	23 (11,68)	19 (9,64)	C	$0,302 \pm 0,023$	$0,330 \pm 0,024$
\hat{h}				$0,424 \pm 0,026$	$0,444 \pm 0,023$
Eq. H-W χ^2 (p)					$0,622$ (0,445)
Estadístico t_s (p)			$0,843$ (0,399)		

Frec.: Frecuencias alélicas. s.e.: Error estándar; \hat{h} : Índice de heterocigosidad incesgada; Eq. H-W: Equilibrio Hardy-Weinberg.

En la tabla 66 se detallan los OR calculados a partir del análisis general según diferentes modelos genéticos, a partir de cuyos resultados se establece un posible patrón de comportamiento en la relación entre el rs744154 y el desarrollo de PCa. Los resultados obtenidos no son estadísticamente significativos, aunque hay valores cercanos al nivel de significación, especialmente en el modelo sobredominante, que ponen de manifiesto el efecto de riesgo de ambos genotipos homocigotos.

Tabla 66. Modelos genéticos OR (rs744154).

Modelo genético	OR (IC 95%)	χ^2	p
Dominante/recesivo			
GG/CG+CC	1,358 (0,913-2,019)	2,290	0,130
CC/CG+GG	1,238 (0,651-2,354)	0,426	0,514
Alélico			
G/C	1,138 (0,842-1,537)	0,710	0,399
Sobredominante			
CC+GG/CG	1,488 (0,995-2,225)	3,764	0,052
Codominante			
CC/CG	1,525 (0,773-3,011)	1,490	0,222
GG/CG	1,480 (0,972-2,254)	3,346	0,067
GG/CC	0,970 (0,495-1,903)	0,008	0,930

OR: Odds ratio; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Ambos genotipos homocigotos parecen mostrar un efecto de riesgo muy parecido, pero con valores de significación estadística ligeramente distintos, de tal modo que la significación es mayor para el genotipo CC ($OR_{GG/CG} = 1,480$; $p = 0,067$) que para el genotipo GG ($OR_{CC/CG} = 1,525$; $p = 0,222$).

De la misma forma que se realizó para el resto de marcadores, el análisis estratificado por edad, tabaquismo e IMC se lleva a cabo siguiendo un modelo codominante (Tabla 67).

Tabla 67. Estratificación por variables (rs744154).

		CC/CG			GG/CG	
Variables	Caso	Control	OR (IC 95%)	X ² (p)	OR (IC 95%)	X ² (p)
Edad (años)						
< 65	86	62	1,114 (0,361-3,437)	0,036 (0,850)	1,404 (0,696-2,833)	0,907 (0,341)
65 - 69	62	45	3,120 (0,603-16,149)	1,872 (0,171)	1,896 (0,846-4,252)	2,438 (0,118)
≥ 70	48	88	1,733 (0,585-5,132)	1,000 (0,317)	1,222 (0,567-2,634)	0,265 (0,607)
Tabaquismo (Pack-years)						
No fumadores	57	61	1,418 (0,378-5,236)	0,272 (0,602)	1,142 (0,530-2,460)	0,117 (0,732)
> 0 - 18	35	43	0,235 (0,026-2,092)	1,730 (0,188)	0,696 (0,274-1,767)	0,590 (0,442)
> 18 - 38	40	38	8,615 (1,171-63,390)	4,597 (0,032)	2,238 (0,791-6,326)	2,347 (0,125)
> 38	64	61	1,571 (0,535-4,615)	0,686 (0,408)	2,812 (1,290-6,127)	6,833 (0,009)
IMC						
< 28	92	59	1,143 (0,384-3,401)	0,058 (0,809)	1,247 (0,616-2,523)	0,379 (0,538)
≥ 28	103	84	1,800 (0,646-5,015)	1,277 (0,258)	1,530 (0,830-2,819)	1,872 (0,171)

Resultados estadísticamente significativos en **negrita**.

En la estratificación por edad no se han observado valores estadísticamente significativos, pero sí parece darse un posible efecto de riesgo en ambos genotipos homocigotos (Tabla 67). Este riesgo alcanza los valores más elevados, en ambos casos, para un rango de edad intermedia entre 65 y 69 años ($OR_{CC/CG} = 3,120$; $p = 0,171$; $OR_{GG/CG} = 1,896$; $p = 0,118$).

En los individuos no fumadores el genotipo heterocigoto parece manifestar un posible efecto de riesgo no significativo al compararlo con el genotipo homocigoto CC ($OR_{CC/CG} = 1,418$; $p = 0,272$). En cambio, frente al genotipo homocigoto GG este riesgo es menor ($OR_{GG/CG} = 1,142$; $p = 0,732$), aproximándose a la neutralidad. Para los valores de consumo tabáquico bajo el riesgo estaría vinculado al genotipo heterocigoto. Dichos resultados se vuelven a invertir a partir de 18 PY, mostrando en este caso el genotipo CC riesgo estadísticamente significativo en comparación con el heterocigoto ($OR_{CC/CG} = 8,615$; $p = 0,032$) hasta un consumo de 38 PY. A partir de dicho consumo es el genotipo GG el que pasa a mostrar un valor de OR estadísticamente significativo ($OR_{GG/CG} = 2,812$; $p = 0,009$).

En cuanto a la estratificación por IMC, los resultados obtenidos no son estadísticamente significativos. Se observan valores de riesgo cercanos a la neutralidad en individuos con IMC por debajo de la media de la muestra (Tabla 67), siendo mayor el riesgo asociado al genotipo CC ($OR_{CC/CG} = 1,247$; $p = 0,538$) que al GG ($OR_{GG/CG} = 1,143$; $p = 0,809$). Para valores de IMC por encima de 28 se observa un aumento del riesgo asociado a los homocigotos, aunque sin llegar a valores significativos ($OR_{GG/CG} = 1,530$; $p = 0,171$; $OR_{CC/CG} = 1,800$; $p = 0,258$). Este aumento del riesgo para valores elevados de IMC se observa también en los resultados de la figura 80.

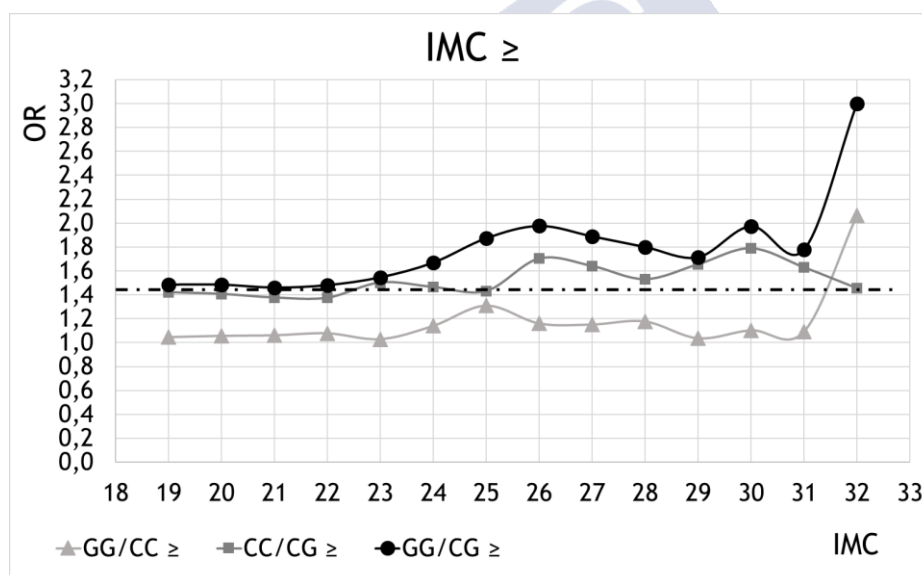


Figura 80. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (rs744154).

3.2.11. Análisis de riesgo de combinaciones genotípicas de marcadores inflamatorios.

En principio las comparaciones se han realizado con todas las combinaciones de genotipos posibles para cada pareja de marcadores. Adicionalmente, se realizaron análisis en los que se comparaban varias combinaciones de genotipos, que evidenciaban riesgo en los análisis anteriores, frente a combinaciones de genotipos potencialmente protectores. Dado que en este análisis de combinaciones genotípicas se han realizado alrededor de 300 comparaciones, en la tabla 68 únicamente se muestran los resultados estadísticamente significativos, es decir, aquellos que pueden evidenciar asociación entre las combinaciones de genotipos y el riesgo a desarrollar PCa.

Tabla 68. Combinaciones genotípicas estadísticamente significativas.

Interacción	Modelo	Casos	Controles	OR (IC 95%)	x ² (p)
IL-1A + IL-6	InsDel-CG/InsIns-CC	62	42	2,640 (1,022-6,821)	4,055 (0,044)
	(DelDel-CG)+(InsDel+CG)/InsIns-CC	72	49	2,528 (0,998-6,401)	3,858 (0,049)
IL-1A + IL-18	DelDel-CC/InsIns-GG	16	16	4,84 (1,101-21,268)	4,5 (0,034)
	InsDel-CG/InsIns-GG	47	40	3,186 (1,030-9,855)	4,093 (0,043)
	(DelDel-CC)+(InsDel-CC)/InsIns-GG	68	57	3,013 (1,013-8,963)	3,964 (0,046)
	(InsDel-CC)+(InsDel-CG)/InsIns-GG	99	81	2,954 (1,019-8,563)	4,002 (0,045)
IL-1B + IL-6	AG-CG/GG-GG	96	69	1,964 (1,049-3,676)	4,485 (0,034)
	AG-CG/AG-CC	61	41	4,256 (1,526-11,868)	7,738 (0,005)
	AG-GG/AG-CC	54	50	2,811 (0,997-7,927)	3,854 (0,049)
	(AG-GG)+(AA-GG)+(AG-CG)+(AA-CG)/(GG-CC)+(GG-CG)+(GG-GG)+(AG-CC)+(AA-CC)	242	190	1,511 (1,031-2,215)	4,487 (0,034)
	(AG-CG)/(GG-CC)+(GG-CG)+(GG-GG)+(AG-CC)+(AG-CC)+(AA-CC)	169	137	1,878 (1,114-3,167)	5,610 (0,018)
	AG-CC/GG-TT	52	44	2,852 (1,154-7,049)	5,206 (0,022)
IL-1B + IL-10	(AG-CC)+(AA-CC)/GG-TT	57	46	2,864 (1,230-6,666)	6,015 (0,014)
	(AG-CC)+(AA-CC)/(GG-CT)+(GG-TT)	113	88	2,198 (1,032-4,68)	4,189 (0,041)
	CC-CT/CC-TT	31	29	6,525 (1,445-29,464)	6,048 (0,014)
IL-18 + MIF	CC-CT/GG-CT	31	27	5,075 (1,054-24,437)	4,175 (0,041)
	CG-CT/CC-TT	28	33	4,875 (1,049-22,656)	4,153 (0,042)
	GG-CC/GG-CT	69	64	2,913 (1,311-6,473)	6,945 (0,008)
IL-6 + IL-10	GG-CC/CC-CT	36	24	3,073 (1,046-9,024)	4,242 (0,039)
	GG-CC/CC-TT	35	23	3,151 (1,042-9,529)	4,207 (0,040)
	CG-CT/GG-CT	110	76	2,030 (1,123-3,669)	5,530 (0,019)
	CG-CT/CC-CT	77	46	2,639 (1,064-6,548)	4,419 (0,035)
	CG-CT/CC-TT	76	45	2,707 (1,055-6,943)	4,331 (0,037)
	(GG-CC)+(CG-CC)/(CC-CT)+(CC-TT)	60	49	2,248 (1,032-4,896)	4,197 (0,040)
	GG-CC/(CC-CT)+(CC-TT)	45	36	3,11 (1,245-7,770)	5,973 (0,014)
	CG-AA/CC-AA	13	8	9,167 (1,240-67,774)	4,947 (0,026)
IL-6 + MIF	CG-CC/GG-CC	99	98	1,888 (1,073-3,322)	4,889 (0,027)
IL-6 + TNFa	GG-TT/CC-CT	45	59	4,927 (1,158-20,959)	4,706 (0,030)
	CG-CC/CC-CT	10	17	7,333 (1,246-43,163)	5,040 (0,025)
	CG-CT/CC-CT	32	37	6,346 (1,464-27,512)	6,187 (0,013)
	CG-TT/CC-CT	49	52	6,305 (1,529-25,992)	6,556 (0,010)
IL-10 + IL-17A	CC-GG/TT-AG	53	38	3,232 (1,175-8,890)	5,223 (0,022)
	CC-GG/CT-AG	71	47	2,680 (1,004-7,153)	3,906 (0,048)
	CC-GG/CT-GG	77	55	2,865 (1,091-7,524)	4,603 (0,032)
	CC-GG/CC-AG	45	28	2,933 (1,013-8,497)	3,987 (0,046)
	((CC-AA)+(CC-GG))/CT-AG	73	48	2,527 (0,996-6,406)	3,844 (0,049)
	((CC-AA)+(CC-GG))/TT-AG	55	39	3,048 (1,164-7,982)	5,201 (0,023)
	((CC-AA)+(CC-GG))/(TT-AG)+(CT-AG)	106	80	2,731 (1,129-6,610)	4,992 (0,026)
	(CC-GG)/(TT-AG)+(CT-AG)	104	79	2,897 (1,136-7,387)	4,987 (0,026)

Tabla 68 (continuación). Combinaciones genotípicas estadísticamente significativas.

Interacción	Modelo	Casos	Controles	OR (IC 95%)	χ^2 (p)
IL-10 + IL-18	CC-CG/TT-CG	50	39	2,470 (1,001-6,097)	3,892 (0,048)
	CC-CG/CT-GG	30	21	3,614 (1,099-11,887)	4,564 (0,033)
IL-10 + MIF	(CC-CC)/(CT-TT)+(TT-TT)	30	28	3,611 (1,009-12,929)	3,962 (0,046)
IL-10 + TNF α	CC-CT/CT-CT	45	52	2,901 (1,151-7,311)	5,152 (0,023)
	TT-CC/CT-CC	12	9	7,000 (1,009-48,544)	4,073 (0,044)
	CT-TT/CT-CT	92	95	1,890 (1,038-3,440)	4,363 (0,037)
	TT-CC/CT-CT	36	45	6,143 (1,396-27,021)	5,841 (0,016)
	TT-CC/TT-TT	41	41	4,727 (1,041-21,460)	4,1 (0,043)
IL-17A + TNF α	GG-CC/GG-CT	32	35	4,174 (1,078-16,154)	4,347 (0,037)
	GG-CC/AG-CC	12	11	8,00 (1,295-49,407)	5,239 (0,022)

La IL-1 α en combinación con las interleuquinas 6 y 18 muestra asociación, siempre con riesgo vinculado al alelo Del, ya sea en homocigosis (riesgo mayor) o en heterocigosis. De la misma forma, el genotipo InsIns siempre manifiesta efecto protector en estas combinaciones. El mayor OR obtenido con esta interleuquina se obtiene al agruparla con la IL-18, en ambos casos combinando los dos genotipos de riesgo frente a los protectores ($OR_{(DelDel-CC/InsIns-GG)} = 4,840$; $p = 0,034$). En el análisis conjunto de IL-1 α e IL-6 el mayor OR es considerablemente menor que el anterior ($OR_{(InsDel-CG/InsIns-CC)} = 2,640$ $p = 0,044$).

La IL-1 β se vincula con la IL-6 y con la 10, manifestando en ambos casos efecto de riesgo el genotipo heterocigoto. El genotipo AA muestra riesgo estadísticamente significativo únicamente cuando se agrupa con el heterocigoto. El OR con mayor riesgo obtenido se da en este caso al combinarse la IL-1 β con la IL-6, pero en dicho modelo destaca especialmente el efecto de riesgo del genotipo heterocigoto de la IL-6 ($OR_{(AG-CG/AG-CC)} = 4,256$; $p = 0,005$). En cuanto a la combinación de IL-1 β e IL-10 los valores de OR son menores, siendo el resultado más notable el obtenido al agrupar el riesgo vinculado al genotipo CC de la IL-10 frente a la combinación de genotipos protectores ($OR_{(AG-CC)+(AA-CC)/(GG-TT)} = 2,864$; $p = 0,014$).

En cuanto a la IL-18, como ya se ha dicho, se observan resultados significativos al combinarla con la IL-1 α , pero también con la IL-10 y con el MIF. El genotipo de riesgo en esta interleuquina varía según el modelo de agrupación, oscilando entre el homocigoto CC y el heterocigoto CG. Es decir, ambos genotipos manifiestan un posible riesgo a desarrollar PCa dependiendo de los genotipos con los que se los agrupan. Por el contrario, el genotipo homocigoto GG aparece únicamente con efecto protector. En la combinación de la IL-10 y la 18 el mayor valor de OR se obtiene al comparar los genotipos de riesgo con los protectores ($OR_{(CC-CG/CT-GG)} = 3,614$; $p = 0,033$). Por otra parte, en la combinación entre IL-18 y MIF los valores de OR son generalmente elevados, con un OR máximo de 6,525 para el modelo (CC-CT)/(CC-TT) ($p = 0,014$). Este OR permite remarcar el efecto de riesgo del genotipo heterocigoto del MIF sobre el homocigoto TT.

La IL-6 es una citoquina central en las rutas inflamatorias, con una gran cantidad de interacciones. Por ello no es de extrañar que a su vez se observen varias asociaciones significativas al combinarlas con las IL-1 α y β , con la IL-10, la IL-17A y el TNF- α . El genotipo heterocigoto de esta interleuquina muestra un efecto de riesgo consistente, mientras que el genotipo homocigoto GG solo manifiesta riesgo en ciertos casos. El otro genotipo homocigoto

siempre parece vincularse al efecto protector. Al combinar genotipos de riesgo de IL-6 e IL-10 y compararlos con todos los de protección se obtiene el mayor valor de OR ($OR_{(GG-CC)/(CC-CT)+(CC-TT)} = 3,110$; $p = 0,014$). Sin embargo, este valor, así como los otros OR significativos obtenidos en esa comparación, es menor que el único calculado al combinar IL-6 e IL-17A ($OR_{(CG-AA/CC-AA)} = 9,167$; $p = 0,026$), en el que se observa el elevado riesgo que el genotipo heterocigoto de IL-6 puede llegar a manifestar al combinarlo con otra citoquina. En el caso de IL-6 y MIF únicamente se observa un resultado estadísticamente significativo, que vuelve a mostrar el efecto de riesgo del heterocigoto de la interleuquina 6 ($OR_{(CG-CC/CC-CC)} = 1,888$; $p = 0,027$).

La IL-10 es otra citoquina con gran cantidad de interacciones, ya que además de los vínculos ya señalados muestra valores de asociación significativos al combinarla con la IL-17A, al MIF y al TNF- α . Generalmente el genotipo CC parece ejercer efecto de riesgo, mientras que el genotipo CT muestra un riesgo menor y el homocigoto TT es protector. Este patrón de comportamiento cambia en la combinación de IL-10 con TNF- α , en la cual los genotipos CT y TT pasan a ser los de riesgo ($OR_{(TT-CC/CT-CT)} = 6,143$; $p = 0,016$). Todos los OR calculados en la combinación de IL-10 e IL-17A oscilan entre valores de 2,5 y 3, con un valor máximo para la comparación de los dos homocigotos de riesgo con dos de los genotipos protectores ($OR_{(CC-GG/TT-AG)} = 3,232$; $p = 0,022$). Por otra parte, los valores de OR obtenidos entre IL-10 e IL-18, así como TNF- α , son prácticamente iguales ($OR_{(CC-CG/CT-GG)} = 3,614$; $p = 0,033$) y ($OR_{(CC-CC)/(CT-TT)+(TT-TT)} = 3,611$; $p = 0,046$, respectivamente).

La última interleuquina analizada es la IL-17A, que como ya se ha comentado anteriormente, muestra resultados significativos al combinarla con las interleuquinas 6 y 10, además de con el TNF- α . En este caso el genotipo GG muestra efecto de riesgo, así como el AA cuando va acompañado del GG. El genotipo heterocigoto siempre parece actuar como genotipo protector. El elevado efecto de riesgo del homocigoto GG puede observarse en el OR calculado conjuntamente con el TNF- α ($OR_{(GG-CC/AG-CC)} = 8,00$; $p = 0,022$).

El MIF únicamente muestra resultados significativos en las combinaciones ya citadas, con IL-10 e IL-18. El alelo de riesgo en estos casos sería el C, tanto en homocigosis como en heterocigosis, mientras que el genotipo TT parece mostrar efecto protector frente al desarrollo del PCa.

Para finalizar, la TNF- α muestra asociaciones significativas en las combinaciones con las interleuquinas 6, 10 y 17A. Ambos genotipos homocigotos muestran efecto significativo de riesgo mientras que el heterocigoto actuaría como genotipo protector.





4. DISCUSIÓN.



4.1. Análisis de PSA.

El PSA o antígeno prostático específico es una glucoproteína sintetizada por células prostáticas. Su función principal es la de diluir el coágulo prostático de tal modo que los espermatozoides puedan moverse más libremente y su producción parece depender de la presencia de andrógenos y del tamaño de la próstata. Esta molécula se encuentra, en su mayor parte, como forma activa unida a otra molécula, y en menor proporción también en la sangre, en este caso libre e inactiva. La valoración de sus niveles séricos constituye la prueba de diagnóstico clínico más utilizada, ya que permite detectar patologías prostáticas, como el cáncer, de forma precoz. Sin embargo, hay diversos factores que producen fluctuaciones en los valores de PSA, tales como la prostatitis, la HBP o ciertos medicamentos, lo que provoca la reducción en la sensibilidad y especificidad de la prueba. Además, a medida que aumenta el tamaño de la próstata y del tumor se produce un incremento del PSA sérico, que también se relaciona con el grado de la patología. A su vez, los valores de PSA son mayores en varones con edad avanzada, asociados frecuentemente a la presencia de inflamación e infecciones no relacionadas directamente con el PCa.

Así, en pacientes con infecciones e inflamaciones prostáticas se han encontrado niveles elevados de PSA. Estos perfiles están muy vinculados a la inflamación, siendo la inflamación crónica una de las causas de la hiperplasia y el PCa, que a su vez incrementan aún más los valores de PSA. Por todo ello parece especialmente interesante llevar a cabo un estudio de la posible relación entre los niveles de PSA y los marcadores genético moleculares relacionados con la inflamación analizados en este trabajo.

Hay que tener claro que el PSA no es un factor de riesgo, sino que su aumento es una de las consecuencias o síntomas de patologías prostáticas entre las que se encuentra el cáncer. Por ello no parece adecuado estudiar este factor como uno más de las variables que se han tratado en este trabajo ya que, en el caso de la edad, el consumo tabáquico y el índice de masa corporal son factores cuya variación puede afectar al desarrollo del tumor, pero no así el PSA. En las tres variables anteriormente citadas, habituales factores de riesgo asociados a la carcinogénesis, era especialmente importante estudiar el posible aumento del riesgo vinculado a uno o varios genotipos de los marcadores analizados. En el caso del PSA éste es un factor sintomático en el que no tiene sentido buscar un riesgo, pero sí, quizá, una relación o vínculo genético. La idea en este caso era comprobar si la cantidad de PSA puede, además de al desarrollo del cáncer, asociarse a un genotipo u otro. De hecho, no parece descabellado suponer que un genotipo que incremente el riesgo del desarrollo del cáncer mediante procesos inflamatorios pueda estar vinculado significativamente a un mayor valor de PSA. De este modo podría encontrarse un marcador genético molecular claramente vinculado al desarrollo del PCa y/o a los valores de PSA, de tal modo que se pudiese incrementar la sensibilidad y especificidad de la prueba rutinaria de PSA gracias a un análisis genético complementario.

Para llevar a cabo esta valoración, se hizo claro desde el primer análisis descriptivo de la muestra que era necesario estudiar separadamente casos y controles. Los controles presentan niveles de PSA bajos, todos ellos por debajo de 8, mientras que los casos llegan a alcanzar valores por encima de 200. Esto era lo esperado, ya que tal y como se ha explicado anteriormente, patologías prostáticas, entre las que destaca el cáncer de próstata, son el origen del incremento de PSA. De este modo la mayoría de los varones enfermos presentarán, en general, concentraciones por encima de 4 ng/ml, mientras que los varones sanos suelen presentar concentraciones por debajo del nivel de riesgo (4 ng/ml) y siempre por debajo de 8 ng/ml. Así, estos dos grupos presentan valores significativamente distintos de PSA ($p < 0,001$) y por lo tanto constituyen dos muestras intrínsecamente diferentes, independientemente de sufrir o no PCa.

El grupo de los controles presenta un rango mucho menor de valores de PSA, por lo que no se llevó a cabo análisis de estratificación. Los resultados obtenidos no indican en ningún caso asociación entre los marcadores inflamatorios y el PSA. En cuanto al grupo de los casos, sus medidas son mucho más variables, alcanzando valores considerablemente elevados, pero también con valores que se considerarían por debajo del nivel de riesgo clínico. Por ello, el análisis se realizó tanto globalmente como estratificado en función de la media obtenida en la muestra (≈ 10 ng/ml). Los resultados obtenidos en uno y otro análisis coinciden con el de los controles, ya que no se encontró asociación estadística entre la distribución de la concentración del PSA y los genotipos de los distintos marcadores.

Resulta evidente que hay una relación clara entre el incremento en los valores del PSA y el desarrollo del cáncer de próstata. De la misma forma, también se ha observado separadamente una relación entre la inflamación y el aumento de PSA, así como con el desarrollo del cáncer. A pesar de ello, la falta de asociación observada en el estudio de la relación entre el desarrollo del PCa y los marcadores genéticos dan muestra de la complejidad de estas interacciones, observándose tendencias, pero no siempre vínculos estadísticamente significativos. De este modo, la variación genética tendrá un impacto menor y, por lo tanto, difícil de cuantificar, sobre una variable como el PSA, la cual presenta una relación que parece clara, pero no directa, con la inflamación y el cáncer.

Por otra parte, hoy en día se remarca la importancia del seguimiento en los niveles de PSA en el transcurso de la enfermedad utilizando esta medida como indicación del progreso del cáncer y de la respuesta a tratamiento. El PSA se vincula estrechamente con el receptor androgénico (AR) por lo que se asocia también al tratamiento del cáncer. Teniendo en cuenta las fluctuaciones existentes en los valores individuales de concentración del factor, también es importante estudiar cómo varía la concentración de PSA a lo largo del tiempo, ya que un aumento progresivo y rápido puede ser mejor indicación de una patología que un valor puntual elevado. Por ello, sería interesante analizar el PSA en posteriores estudios genéticos que además tengan en cuenta datos prospectivos.

4.2. Análisis de asociación marcadores/PCa.

4.2.1. INTERLEUQUINA 1A – rs3783553.

En este apartado se analiza la posible influencia de una inserción de cuatro nucleótidos (TGAA) en la región 3'-UTR del gen *IL-1A*, rs3783553, sobre el desarrollo de cáncer de próstata. Esta inserción nucleotídica puede afectar a la regulación de los niveles de expresión del gen *IL-1A* debido a alteraciones en la capacidad de unión de la 3'-UTR del gen al miR-122 y miR-378. La presencia de polimorfismos genéticos en regiones promotoras y codificantes pueden regular la secreción de las citoquinas. Dado que la IL-1 α es una citoquina proinflamatoria con capacidad para inducir la expresión de otros genes, su regulación puede ser un punto central en el origen de la tumorigénesis. El alelo de la delección fortalece la unión entre el ARNm y los miRNA, de tal forma que inhibe la expresión del ARNm del gen *IL-1A* atenuando la inmunidad antitumoral de la citoquina. En el caso del miR-378 se ha comprobado que su sobreexpresión puede inhibir el crecimiento celular y la invasión tumoral. Paralelamente el alelo de inserción rompe el sitio de unión para el miRNA-122, aumentando la expresión del gen y con ello en células sanas incrementa el efecto antitumoral de la citoquina. Sin embargo, en condiciones patológicas de sobreexpresión este alelo podría incrementar el riesgo a desarrollar ciertos tipos de cáncer (Amador *et al.*, 2016; Y. Gao *et al.*, 2009; Yan *et al.*, 2015; Z.-H. Yang *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2016; Zeng, Li, & Li, 2014). En el análisis de la muestra de este trabajo se ha concluido que el alelo de delección ejerce cierto riesgo sobre el desarrollo de PCa, coincidiendo con la mayoría de los estudios previos. Sin embargo, hay matices que deben ser tenidos en consideración.

Los resultados de los OR generales muestran valores semejantes para individuos que portan una o dos copias de la delección, de tal modo que este marcador se comportaría de acuerdo a un modelo dominante/recesivo, siendo el alelo de riesgo y dominante la delección. Los resultados obtenidos muestran un riesgo relativamente bajo, con OR nunca mayores que 1,3 ($OR_{(Del/Del)/(Ins/Ins)} = 1,229$; $p = 0,559$), así como ausencia de significación estadística, lo que hace especialmente importante la realización de un análisis estratificado.

En trabajos previos se indica que el alelo de delección se corresponde con una menor expresión del gen, mediante la alteración de las uniones de miRNA. La IL-1 α es proinflamatoria y se ha observado que aparece en elevadas concentraciones en microambiente tumoral, es decir, hay mayor expresión en tejidos tumorales que en tejidos sanos. Cantidades elevadas de la forma secretada de esta citoquina parecen manifestar efectos protumorigénicos, de la misma forma que dosis bajas de esta citoquina inducen efectos antitumorales (Yu *et al.*, 2016). Por todo ello, en principio el alelo de *IL-1A* que favorezca la unión a miRNA inhibirá la expresión de la proteína IL-1 α . Sin embargo, el alelo de delección favorece dicha unión y por ello inhibe la expresión de IL-1 α . En la mayoría de estudios el alelo de inserción se muestra como el alelo protector, pese a su asociación con una mayor expresión.

Teniendo en cuenta que la IL-1 α es una citoquina producida en respuesta a inflamación, al daño celular, a la senescencia y a la necrosis celular, además de producir citoquinas proinflamatorias (incluyendo su propia autorregulación) como sistema de defensa frente a

dichos daños, quizá las elevadas concentraciones en las áreas tumorales no aparezcan como causa o factor protumorigénico, sino como efecto secundario de dicho proceso. Es decir, una vez empieza a desarrollarse el tumor se recibirían las señales de daño y de inflamación, con lo que la IL-1 α se sintetizaría como respuesta y ejercería una función de defensa anti-tumorigénica. De este modo, un genotipo vinculado a menor expresión implicaría a su vez un incremento del riesgo a desarrollar cáncer, ya que se estaría reduciendo una importante señal de defensa.

Pese a la adecuación del marcador a un modelo genético concreto, dicho comportamiento no siempre se mantiene en la estratificación de la muestra, ya que bajo ciertas circunstancias el efecto de un alelo u otro puede alterarse y con ello cambiar el modelo de mejor ajuste. Por lo tanto, la estratificación se lleva a cabo siguiendo el modelo codominante ya que éste permite una visualización más clara del efecto de cada uno de los genotipos. Esto se mantuvo en todos los marcadores, de modo que en principio la estratificación por edad, tabaquismo e IMC se realizó calculando dos OR codominantes que muestran el efecto de los tres genotipos posibles. En los casos en que los resultados obtenidos se ajustaron a otro modelo sus resultados fueron añadidos, ya que pueden ser informativos para la interpretación de los datos.

En el análisis de estratificación realizado en función de la edad, al igual que ocurría en el análisis general se mantiene el modelo de dominancia/recesividad con riesgo y dominancia asociados al alelo de la delección. Sin embargo, en edades elevadas el efecto de cualquiera de los tres genotipos tiende a la neutralidad (Fig. 52). Se produce un aumento del riesgo en edades intermedias, en el grupo entre 65 y 69 años ($OR_{(Del/Del)/(Ins/Ins)} = 3,111$; $p = 0,162$. $OR_{(Del/Del)/(Ins/Del)} = 2,125$; $p = 0,365$), a partir del cual empieza a descender hasta alcanzar la neutralidad. Por lo tanto, podríamos deducir que para edades avanzadas el efecto de este polimorfismo en concreto deja de tener peso respecto al desarrollo de cáncer, no porque su efecto deje de existir, sino probablemente porque el ambiente celular cambia, apareciendo otras alteraciones con mayor influencia sobre la patología, que ocultan o neutralizan la de este polimorfismo. Como hemos comentado anteriormente, una de las características de esta citoquina es que su expresión se incrementa bajo ciertas circunstancias, encontrándose mayor concentración en áreas tumorales, así como en respuesta a la senescencia y necrosis celular. Por otra parte, se ha observado que en grandes cantidades la citoquina pasa a tener un efecto claramente protumorigénico. Por lo tanto, siguiendo el razonamiento del análisis general, cuando la edad es muy elevada, los procesos inflamatorios se incrementan, de modo que la producción de esta proteína sería muy elevada pudiendo pasar a tener efecto nocivo. De este modo el hecho de ser portador de un genotipo que provoque menor expresión de la interleuquina dejaría de tener efecto de riesgo pudiendo llegar a tener un efecto protector por regular la concentración de IL-1 α e impedir su efecto protumorigénico.

El mayor riesgo asociado al consumo tabáquico se ha obtenido para menos de 30 *pack-years*, siendo este grupo el único en el que los OR son estadísticamente significativos ($OR_{(Del/Del)/(Ins/Ins)} = 8,333$; $p = 0,022$). Si se consideran separadamente varones con consumo de tabaco bajo e intermedio, el riesgo del genotipo homocigoto Del/Del es elevado, aunque estadísticamente no significativo. Este resultado aparentemente contradictorio puede deberse a la ausencia de alguno de los genotipos en alguno de los intervalos analizados, lo que limita la potencia estadística del análisis. En los no fumadores y los individuos de consumo elevado el alelo Ins muestra efecto de riesgo no significativo. Por lo tanto, observando la tendencia global de los datos obtenidos, la delección no manifiesta riesgo en los varones no fumadores, pasando a un riesgo elevado en valores de bajo consumo tabáquico que se irá reduciendo

progresivamente a medida que se incrementa dicho consumo, hasta alcanzar valores menores a los obtenidos en no fumadores. Podría ser que el consumo esporádico de tabaco produzca procesos inflamatorios continuados y repetitivos por lo que en un principio la diferencia de expresión vinculada a un alelo u otro se notaría en el organismo de forma continuada, con cada proceso inflamatorio. Sin embargo, en fumadores habituales en los que los procesos de inflamación podrían mantenerse de forma permanente, el hecho de que la expresión de la IL-1 α variase como respuesta a la inserción o delección dejaría de tener un efecto tan visible. O quizá se podría seguir el mismo razonamiento que en el caso de la edad, de tal modo que a medida que se incrementa el consumo de tabaco también lo hace la cantidad de IL-1 α que es secretada, hasta alcanzar un punto en el que pasa a tener un efecto protumorigénico. A partir de dicho momento el alelo asociado a una baja expresión dejaría de ejercer un efecto de riesgo pasando a ser protector por regular la concentración de IL-1 α evitando que alcance una cantidad nociva.

En el análisis estratificado para el IMC se observa que el genotipo Del/Del ejerce efecto de riesgo para varones con IMC por debajo de la media de la muestra y con IMC superior a 30. Sin embargo, los valores de OR obtenidos entre 28 y 30 son opuestos, ejerciendo riesgo los genotipos con el alelo de la inserción. Estos resultados contradictorios probablemente no tienen ningún sentido biológico teniendo en cuenta que en todos los casos los OR son claramente no significativas.

Se han realizado otros estudios de caso-control que vinculan este polimorfismo al desarrollo de cáncer, obteniéndose resultados esencialmente homogéneos en el alelo de riesgo ya que únicamente dos estudios han señalado el alelo de la delección como protector con resultados estadísticamente significativos. Ambos son estudios realizados en población Han china, el primero en cáncer nasofaríngeo y el segundo en próstata (artículo en chino) (Tabla I, Anexo 1) (Liao *et al.*, 2014; Z.-H. Yang *et al.*, 2011). En el resto de artículos se han obtenido OR neutros o de riesgo para el alelo de la delección, aunque no todos estadísticamente significativos. Varios estudios analizaron el polimorfismo y su posible vínculo con el desarrollo de distintos tipos de cáncer, entre los que se encuentran el hepatocelular, colorrectal, endométrico y de tiroides, obteniendo resultados estadísticamente no significativos (Du *et al.*, 2014; Linbo Gao *et al.*, 2014; Yan *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2016). En el cáncer cervical de células escamosas en una población de origen chino se obtuvo asociación estadísticamente significativa para el genotipo Ins/Ins como protección respecto al desarrollo del cáncer (OR = 0,48 (0,25-0,95) (Huang, Ni, Li, & He, 2015), al igual que en el estudio de Pu Y *et al.*, (2014) para cáncer cervical, en el que obtuvieron OR de 0,46 (0,28-0,77). El cáncer nasofaríngeo fue estudiado por el equipo de Yang Z-H (2011) y observaron asociación significativa entre el desarrollo del cáncer y el genotipo homocigoto de inserción, así como del alelo correspondiente. En este trabajo los niveles séricos cuantificados de la IL-1 α eran más bajos en los homocigotos para la inserción que en los otros dos genotipos. El cáncer gástrico también fue estudiado en una población china y se concluyó que el genotipo Ins/Ins se asocia con un descenso del riesgo a desarrollar este tipo de cáncer (OR = 0,48 (0,26-0,90)) (Zeng *et al.*, 2014). El cáncer oral de células escamosas se ha analizado en conjunto con infección por HPV16 y se ha encontrado asociación estadística entre el genotipo Del/Del y el incremento de riesgo a desarrollar el cáncer (OR = 1,60 (1,20-2,20)) (Y. Zhang *et al.*, 2015). En otro estudio se concluyó que el genotipo Ins/Ins reduce la susceptibilidad a desarrollar cáncer de ovario comparado con el genotipo Del/Del (Zhu Zhang *et al.*, 2014). También se ha estudiado el posible efecto del rs3783553

sobre la recurrencia del cáncer, relacionándose positivamente los dos genotipos homocigotos con un aumento en el riesgo de recurrencia de cáncer orofaríngeo (C. Wang *et al.*, 2016).

En cáncer de próstata el rs3783553 se ha estudiado en la población China y se concluyó que el alelo Ins está asociado con un riesgo reducido de PCa, mientras que el genotipo Del/Del incrementa el riesgo a desarrollar la enfermedad (Hashemi *et al.*, 2018; Liao *et al.*, 2014). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en este trabajo, con la delección como alelo de riesgo en cuanto al desarrollo de cáncer de próstata en la muestra analizada, sobre todo en el grupo de individuos de consumo tabáquico medio/bajo. La homogeneidad en los resultados obtenidos en los múltiples estudios existentes para este polimorfismo, a pesar de que en varios casos los resultados sean no significativos, parece apoyar claramente un patrón de riesgo asociado al alelo Del. Por otra parte, teniendo en cuenta las variaciones en su efecto observadas al estratificar la muestra, las variables como edad y consumo de tabaco deberían ser analizadas con mayor detalle con el objetivo de poder confirmar las tendencias observadas en este trabajo.

4.2.2. INTERLEUQUINA 1B - rs16944.

La IL-1 β , una de las dos isoformas de la IL-1, tiene función proinflamatoria en diversos tipos celulares. Su síntesis está determinada por la recepción de estímulos proinflamatorios inductores de respuestas inflamatorias agudas y crónicas. Además, esta citoquina actúa conjuntamente con otras moléculas inflamatorias (IL-17, IL-6, etc.), de tal modo que sus rutas se interrelacionan y sus efectos son, en muchos casos, conjuntos. Se han asociado las concentraciones elevadas de esta proteína al daño tisular y la invasión tumoral. Además, se ha observado que muchos tumores malignos expresan IL-1 β , de modo que muestran elevados niveles de expresión de esta citoquina de manera constitutiva. El rs16944 tiene implicaciones funcionales debido a su localización en la región promotora del gen *IL-1B*. Así, este cambio nucleotídico de A por G influye en la unión de factores de transcripción de manera que afecta a la secreción de IL-1 β . En varios estudios se concluyó que el alelo A estaba asociado a mayor expresión y por tanto a mayor producción de la proteína. En este apartado se analiza el posible efecto de este polimorfismo de *IL-1B* en el desarrollo de PCa, teniendo también en cuenta la edad, el consumo de tabaco y el índice de masa corporal. En los estudios anteriores los resultados no fueron concluyentes, tal y como sucede en este trabajo, en el que los valores de OR obtenidos sugieren un posible riesgo para el alelo A sin significación estadística.

En el análisis general del riesgo mediante el cálculo de OR se observa un patrón de riesgo para el alelo A respecto al alelo G siguiendo un modelo genético de codominancia. Estos resultados concuerdan con la mayoría de los publicados anteriormente, en los que el alelo A se vinculó al incremento en los niveles de IL-1 β y por lo tanto a un incremento en la probabilidad del desarrollo de cáncer. Los valores obtenidos no fueron estadísticamente significativos, por lo que podría resultar de interés realizar un análisis estratificado. Sin embargo, estos análisis tampoco detectaron, en ningún caso, evidencia de asociación significativa. Aunque se puede observar alguna tendencia que pasamos a discutir a continuación.

En lo que se refiere a la estratificación por edad, el riesgo al presentar genotipo AA aumenta a partir de los 65 años, alcanzando los valores más elevados a partir de 74 años. En cuanto al genotipo AG, con un riesgo intermedio entre ambos homocigotos, su valor es relativamente elevado únicamente en el intervalo de edad intermedia, entre 65 y 69 años. A partir de 72 los

OR obtenidos se alejan del valor neutral progresivamente. De la misma forma que sucedía con el análisis general, en el caso de la edad el riesgo del genotipo vinculado a la mayor expresión se manifiesta, de forma no estadísticamente significativa, coherentemente con el efecto del polimorfismo, es decir, mayores niveles de expresión asociados al alelo A. A medida que aumenta la edad se suelen intensificar los procesos inflamatorios, lo cual se vincula de forma directa con una mayor expresión del gen *IL-1B*. Adicionalmente, la presencia del alelo A implica mayor cantidad de citoquina proinflamatoria con posibles efectos cancerígenos. Por lo tanto, el aumento del efecto de riesgo del alelo A a partir de los 72 años estaría vinculado, al igual que ocurría en la *IL-1α*, a una mayor expresión de la *IL-1β*, determinada genéticamente, combinada con una generalización de los procesos inflamatorios.

En el grupo de varones no fumadores únicamente el genotipo AA parece manifestar cierto efecto de riesgo, mientras que, para consumo tabáquico moderado de entre 10 y 25 *pack-years*, tanto el homocigoto AA como el heterocigoto manifiestan un riesgo bastante mayor, especialmente el primero (OR = 2,368; $p = 0,450$). A partir de un consumo de más de 25 PY el riesgo de portar ambas copias del alelo A desaparece, mientras que el genotipo AG pasa a manifestar riesgo únicamente para consumo muy elevado (más de 40 PY) con un OR de 1,551 ($p = 0,279$). Al igual que sucede con otros marcadores analizados, el efecto del genotipo asociado al consumo tabáquico no es demasiado evidente. Sin embargo, este efecto es mayor en el intervalo de consumo intermedio para los individuos portadores del alelo A. Por lo tanto, se observa un efecto de riesgo del alelo A asociado al incremento en la producción de citoquina proinflamatoria en aquellos individuos con consumo intermedio. A medida que dicho tabaquismo aumenta, el riesgo asociado a una mayor expresión de *IL-1β* deja de ser apreciable, quizá debido a un aumento en la importancia del efecto de otros factores, como podría ser la elevada toxicidad de los componentes del tabaco en los fumadores habituales.

En el análisis del IMC se observa que el genotipo de mayor riesgo es el heterocigoto, con valores de OR mayores para individuos por debajo de la media de la población. Los individuos con genotipo homocigoto AA únicamente manifiestan efecto de riesgo en ese mismo intervalo. Sin embargo, el punto de máximo riesgo para el alelo A se produce para valores de IMC a partir de 34, es decir, varones con obesidad. Por lo tanto, el mayor riesgo asociado al incremento de expresión de *IL-1B* parece vincularse con un IMC elevado, de tal modo que en valores con obesidad el hecho de portar el alelo A implica un mayor riesgo de desarrollar PCa. Esto puede explicarse por la asociación existente entre el sobrepeso y el incremento del proceso inflamatorio. Sin embargo, estos resultados deben ser considerados con precaución por la ausencia de significación estadística.

En lo que se refiere a estudios previos este polimorfismo se ha estudiado en relación a varios tipos de cáncer, como son ovario, cervical, gástrico, mama, leucemia, piel, esofágico, próstata y hepatocelular (Tabla II, Anexo 1). De la misma manera, también son bastantes los grupos poblacionales analizados, desde caucasoides a orientales, afroamericanos o americanos de origen europeo. En los estudios en cáncer de ovario, piel y leucemia mieloide crónica se obtienen resultados estadísticamente no significativos, así como en algunos de los realizados en cáncer de pulmón, gástrico y mama. En cáncer cervical se obtuvieron valores de riesgo significativos para mujeres con alelo A (OR = 1,87 (1,01 – 3,44)) y se asoció el riesgo al mayor nivel de expresión de la *IL-1β* que se vincula a este alelo y con ello a mayor inflamación (Dutta *et al.*, 2015). En cuanto al cáncer gástrico son tres los estudios con resultados estadísticamente significativos, dos llevados a cabo por el equipo de Machado en 2001 y 2003. En ambos casos el alelo A se mostró como el de efecto de riesgo vinculado a mayor expresión genética y con

ello mayor inflamación ($OR_{AA+AG/GG} = 1,70 (1,1 - 2,7)$, $OR_{AA+AG/GG} = 1,80 (1,3 - 2,5)$, respectivamente) (Jose Carlos Machado *et al.*, 2003; José Carlos Machado *et al.*, 2001). El tercer trabajo que analiza el cáncer gástrico fue llevado a cabo por El-Omar y colaboradores (2000) y muestra el mismo alelo de riesgo, vinculado a su vez a mayor inflamación ($OR_{AG/GG} = 1,80 (1,3 - 2,4)$, $OR_{AA/GG} = 2,60 (1,7 - 3,9)$). También son tres los estudios con resultados estadísticamente significativos en cáncer de mama, el primero de ellos se publicó en 2006 (Jiyong Liu *et al.*, 2006) y concluye que la IL-1 β puede contribuir a la etiología del cáncer de mama ($OR_{AA/GG} = 1,74 (1,18 - 2,56)$). El segundo muestra riesgo para las mujeres americanas de origen europeo y postmenopáusicas portadoras del alelo A ($OR_{AA/GG} = 3,58 (1,58 - 8,14)$; $OR_{AA+AG/GG} = 1,85 (1,12 - 3,05)$), asociado a la mayor cantidad de la proteína IL-1 β encontrada en tumores (Gong *et al.*, 2013). El último trabajo (Zuo *et al.*, 2018) obtuvo resultados distintos a los anteriores, con el alelo A como protector ($OR_{AG/GG} = 0,60 (0,41 - 0,90)$; $OR_{AA+AG/GG} = 0,67 (0,46 - 0,97)$). De la misma forma, en el trabajo llevado a cabo en cáncer esofágico se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en los que también se describe al alelo A como protector frente al desarrollo de la enfermedad ($OR_{AG/GG} = 0,68 (0,48-0,95)$; $OR_{AG+AA/GG} = 0,71 (0,51-0,99)$) (L. Zheng *et al.*, 2013). También, uno de los estudios de cáncer de pulmón muestra resultados significativos en cuanto a la asociación del rs16944 y el desarrollo de la enfermedad, mostrando al alelo A como protector, sobre todo en el caso del heterocigoto, con OR de 0,74 (IC 95% 0,58 – 0,94) (Eaton *et al.*, 2018). Por último, en lo que se refiere al cáncer de próstata hay tres estudios publicados con resultados no significativos (Michaud *et al.*, 2006; Zabaleta *et al.*, 2008; J. Zhang, Dhakal, *et al.*, 2010) y uno estadísticamente significativo, llevado a cabo por el equipo de Yencilek F (2015). En este trabajo se observa un modelo de asociación sobredominante con los individuos heterocigotos mostrando menor riesgo a desarrollar PCa que cualquiera de los dos genotipos homocigotos ($OR_{AG/GG} = 0,344 (0,159 - 0,744)$).

En resumen, en los resultados de los estudios publicados se observa cierta heterogeneidad, aunque en general el alelo A se describe como la variante de riesgo, de tal modo que el incremento en la expresión de *IL-1B* podría asociarse con un aumento de la inflamación, lo que favorecería el desarrollo del tumor. Los resultados obtenidos en nuestro trabajo coinciden en señalar al alelo A como factor de riesgo, aunque la falta de significación y la ausencia de un modelo de asociación claro, que se observan también en otros muchos trabajos publicados, parecen indicar una baja penetrancia de este alelo.

4.2.3. INTERLEUQUINA 18 – rs187238.

En este apartado se analiza la posible influencia del cambio nucleotídico C>G en la posición -137 de la región promotora del *IL-18* sobre el desarrollo de cáncer de próstata. Esta permutación nucleotídica se traduce en cambios en sitios de unión de factores de transcripción, concretamente en el sitio de unión del factor nuclear H4TF-1, lo que a su vez podría tener impacto en la expresión del *IL-18*. Se ha comprobado que la IL-18 es una citoquina proinflamatoria con efectos pleiotrópicos respecto al cáncer, ya que induce la producción de IFN- γ , aumenta la citotoxicidad de las células NK y tiene propiedades proapoptóticas y proangiogénicas (Amin *et al.*, 2007; Dinarello, 1999a; C. C. Park *et al.*, 2001; S. Park *et al.*, 2007). Su posible vínculo con el cáncer se ha estudiado a partir de diferentes perspectivas, desde la valoración de los niveles séricos de IL-18 relacionados con el desarrollo y pronóstico de la enfermedad, hasta el análisis de la influencia de las variaciones genéticas de la región promotora

sobre los tumores. De hecho, se ha planteado el uso de esta interleuquina como un marcador diagnóstico de varios tipos de cáncer, así como su posible uso en tratamientos clínicos. De todas maneras, hay que resaltar que los resultados obtenidos en diversos estudios asociados a distintos tumores son heterogéneos (Osaki *et al.*, 1998; S. Park *et al.*, 2007).

En el análisis del rs187238 en la muestra objeto de este estudio, se ha observado un posible incremento en el riesgo a desarrollar PCa vinculado al alelo C, sin embargo, dicho comportamiento presenta matices que es importante comentar. La muestra analizada en este trabajo presenta frecuencias alélicas semejantes a las que cabría esperar según los resultados disponibles en la base de datos *1000 Genomes*, con valores de aproximadamente 0,7 para el alelo C (*The 1000 Genomes Project Consortium*, 2015). Sorprendentemente, las frecuencias alélicas descritas en la mayoría de estudios de asociación del *locus* rs187238 con el desarrollo del cáncer difieren notablemente de los que aparecen en dicha base de datos. En estos trabajos se describe el alelo C como minoritario, mientras que como hemos comentado anteriormente en *1000 Genomes* este alelo es claramente el mayoritario. En los trabajos de Farhat K *et al.* (2008) y Pratesi C *et al.* (2006) el alelo C sí que es el mayoritario, aunque con frecuencias sensiblemente más bajas que las obtenidas en este trabajo y las observadas en *1000 Genomes*.

En los resultados obtenidos en el análisis general se observa una tendencia de asociación, no significativa, entre el genotipo y el desarrollo de PCa, aunque los resultados no son estadísticamente significativos. Así, se puede considerar que el rs187238 manifiesta un patrón de dominancia-recesividad, siendo el alelo C la variante dominante y de riesgo ($OR_{CC+CG/GG} = 1,29$; $p = 0,481$). De esta forma, la presencia del alelo C, mayoritario en la población, parece aumentar el riesgo de desarrollar PCa cuando no se tienen en cuenta otras variables ($OR_{CG/GG} = 1,35$; $p = 0,573$. $OR_{CC/GG} = 1,33$; $p = 0,439$), tal y como se ha descrito en otros estudios previamente publicados (Tabla III, Anexo 1). Sin embargo, teniendo en cuenta la pleiotropía de la IL-18, cuyas funciones dependen del microambiente celular, y conociendo la heterogeneidad celular de la próstata en el desarrollo tumoral, tiene especial relevancia el estudio de la interacción con otras variables que afectan a dicho ambiente y que permiten un análisis más efectivo del comportamiento del marcador respecto al PCa.

Al analizar la edad como variable junto con el genotipo, globalmente se observa un incremento del riesgo a desarrollar PCa para los hombres portadores del alelo C a medida que aumenta su edad. Hasta los 63 años ser portador de una copia del alelo C presenta un riesgo ($OR_{CG/GG} = 2,08$; $p = 0,277$) mayor que portar dos copias ($OR_{CC/GG} = 1,38$; $p = 0,62$), sin embargo, estos valores no son estadísticamente significativos. Entre 63 y 68 años el alelo C muestra un efecto protector no significativo pese a que a partir de 63 años el efecto del alelo C es neutro con tendencia a incrementarse a medida que se aumenta la edad mínima incluida en el análisis (Fig. 63). De ese modo el riesgo que implica portar el alelo C a partir de 65 años es menor que a partir de los 68 años ($OR_{CG/GG} = 1,699$; $p = 0,403$. $OR_{CC/GG} = 2,721$; $p = 0,105$), momento en el cual se observa un aumento brusco del riesgo que se mantiene hasta los 70 años ($OR_{CG/GG} = 4,545$; $p = 0,133$. $OR_{CC/GG} = 8,667$; $p = 0,020$). Dado que la presencia del alelo ancestral C implica una menor transcripción del *IL-18* debido a cambios en sitios de unión a un factor de transcripción y que la IL-18 parece tener efectos cancerígenos solo bajo ciertas condiciones, se podría suponer que en intervalos de edad elevados la reducción de la expresión de IL-18 debida a la presencia del alelo C podría implicar un aumento del riesgo. Es decir, a partir de 65-68 años el riesgo asociado al alelo C se incrementa a medida que lo hace la edad,

de tal modo que una menor expresión de *IL-18* implicaría riesgo respecto al desarrollo de PCa y, por tanto, la *IL-18* actuaría en estas edades como factor anticancerígeno.

En contraposición, para valores elevados de tabaquismo el genotipo de riesgo, con valores de OR estadísticamente significativos, es el GG. Tal y como se muestra en la tabla 42, para valores de tabaquismo intermedio (hasta 30 PY) el alelo C se asocia con un mayor riesgo. Es decir, una menor expresión de *IL-18* implicaría un riesgo elevado y que llega a ser estadísticamente significativo en el desarrollo de PCa (Tabla 43). De hecho, el mayor valor de riesgo asociado al alelo C se observa en el grupo de consumo inferior a 19 PY ($OR_{CG/GG} = 4,615$; $p = 0,034$. $OR_{CC/GG} = 5,926$; $p = 0,008$). De manera opuesta, para valores de consumo tabáquico elevado la menor expresión de *IL-18* implicaría una protección que se refleja en OR significativamente menores que 1 (Tablas 42 y 43). Así, cabe suponer que, en las condiciones celulares existentes en los casos de un elevado consumo tabáquico, mayores niveles de esta citoquina, y por tanto la presencia del alelo G, actuarían como un factor de riesgo para el desarrollo del PCa.

En cuanto al IMC, se observa un efecto de riesgo de la *IL-18* en varones con IMC extremos, ya sea por bajo peso o por obesidad. Dicho de otra forma, para aquellos varones con IMC de riesgo según la clasificación de la OMS, niveles elevados de *IL-18* supondrían mayor riesgo de desarrollar cáncer, de forma que el alelo C implicaría, en general, protección tanto en el grupo de bajo peso (< 25) ($OR_{CG/GG} 0,650$; $p 0,738$. $OR_{CC/GG} 1,278$; $p 0,849$), como en el de sobrepeso y obesidad (>30) ($OR_{CG/GG} 0,557$; $p 0,448$. $OR_{CC/GG} 0,845$; $p 0,830$). Sin embargo, en varones con IMC medio (25 - 30) el hecho de que exista una menor expresión de *IL-18*, asociada al alelo C, supondría un factor de riesgo ($OR_{CG/GG} 2,409$; $p 0,095$. $OR_{CC/GG} 1,824$; $p 0,241$). De todas maneras, hay que tener en cuenta que en este caso este patrón de comportamiento no está apoyado por resultados estadísticamente significativos.

En resumen, en el análisis general de este marcador se ha observado que el alelo C, que implica menores niveles de expresión de *IL-18*, se asocia al desarrollo de PCa, aunque, esta asociación no es estadísticamente significativa. En cualquier caso, nuestros resultados parecen coincidir con los obtenidos por Lebel-Binay y colaboradores (2003) en cáncer de próstata, pero no con otros tipos de cáncer en los que una mayor concentración de *IL-18* se asocia al desarrollo del mismo. No obstante, los resultados obtenidos en los análisis estratificados sugieren que en determinados grupos de la población el efecto de este polimorfismo sobre el desarrollo de PCa se magnifica de forma considerable, aunque se observa bastante variabilidad en el comportamiento o efecto del marcador. Esto podría explicarse si tenemos en cuenta las múltiples funciones de esta interleuquina relacionadas con el desarrollo y pronóstico del cáncer. En varios de los estudios ya citados se afirma que la *IL-18* parece tener efectos protumorigénicos bajo ciertas condiciones y quizá en aquellos grupos en los que observamos riesgo asociado al genotipo GG se presentan dichas condiciones.

En los estudios publicados en relación al rs187238 y el cáncer (Tabla III, Anexo 1), se aprecia una considerable homogeneidad de resultados en lo que se refiere al alelo de riesgo, lo que permitiría suponer que el alelo C, y por lo tanto una menor expresión del gen y cantidad de la citoquina, implican mayor riesgo en lo que a desarrollo de la enfermedad se refiere. Sin embargo, en algunos casos parece observarse un efecto de riesgo asociado a elevada cantidad de *IL-18*, tal y como ocurre en ciertos grupos de consumo tabáquico analizados en este estudio, lo cual concordaría con lo que postulan algunos estudios afirmando que la *IL-18* bajo ciertas

condiciones pasa de tener efecto anti-tumorigénico a protumorigénico. La falta de resultados estadísticamente significativos en el análisis general y en parte de la estratificación quizá se deba a los variados efectos que tiene esta citoquina sobre el desarrollo, la agresividad y la progresión del cáncer, así como la multitud de factores con los que está relacionada, que tienen, a su vez, efectos diversos sobre la enfermedad.

4.2.4. INTERLEUQUINA 6 - rs1800795.

La IL-6 es una citoquina sintetizada por múltiples tipos celulares de forma no constitutiva, sino como respuesta a estímulos determinados, como la inflamación aguda. Sus acciones son tanto proinflamatorias como antiinflamatorias, ya que activa macrófagos y participa en la diferenciación de células T y B, pero también inhibe la secreción de citoquinas proinflamatorias, entre otras funciones. Durante décadas se ha estudiado su estrecha relación con la carcinogénesis, considerándose una citoquina con efectos pro y anticancerígenos. La mayoría de células del tumor producen esta citoquina, lo que contribuye a la proliferación celular, a la transformación de células benignas en malignas, reduce la apoptosis y promueve la metástasis. Esta interleuquina ha sido ampliamente estudiada en el cáncer de próstata, donde se ha observado que las células tumorales prostáticas producen elevada cantidad de IL-6 y de sus receptores, además de funcionar como factor de crecimiento para varios tipos de células de la próstata. El SNP analizado consiste en un cambio de G por C en la posición -174 de la región promotora del gen *IL-6*, que afecta al nivel de transcripción, de tal modo que es responsable, al menos en cierto grado, de la regulación de su expresión y con ello altera la concentración existente de la citoquina. En la mayoría de los estudios se asocia el alelo G con una mayor expresión y por tanto con mayor concentración de IL-6, pero se han encontrado algunos casos en los que se asocia el alelo C a una mayor expresión.

Al observar las frecuencias alélicas de este polimorfismo en distintas poblaciones, así como en la muestra de este análisis, se encuentra una elevada variabilidad, ya que se detectan desde niveles monomórficos del alelo G en las poblaciones de África y el este de Asia hasta valores cercanos al 50% en Europa. La elevada variación geográfica en las frecuencias alélicas hace que, en este caso, el origen de la muestra analizada adquiriera especial importancia. Esto se hace evidente al observar la heterogeneidad de los resultados obtenidos en trabajos que analizan diferentes grupos poblacionales. Por lo tanto, en este caso se hace necesaria una estratificación por origen en los análisis de poblaciones mixtas, ya que un análisis global podría enmascarar asociaciones en las diferentes subpoblaciones (Dossus *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2014; Mandal *et al.*, 2014; Rothman *et al.*, 2006).

En este marcador es destacable el hecho de que en el grupo de controles las frecuencias genotípicas observadas se apartan significativamente de las esperadas asumiendo equilibrio Hardy-Weinberg ($p = 0,027$). Las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg pueden deberse a diferentes causas. En primer lugar, a la existencia de estructura poblacional, que está relacionada con la ausencia de apareamiento al azar. En este caso el desequilibrio afectaría a todo el genoma, pero se ha visto que en el resto de marcadores no se observan estas desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg. Un segundo factor se refiere al hecho de que este marcador pueda estar sometido a la acción de la selección natural. Sin embargo, en ese caso esperaríamos que el desequilibrio apareciera tanto en casos como en controles. Un tercer factor que puede influir en este resultado de desequilibrio es un defecto en la técnica de genotipado. Sin embargo,

en caso de haber un defecto en el genotipado éste debería estar presente en las dos partes de la muestra y no únicamente en controles. Por último, una desviación significativa de las proporciones Hardy-Weinberg puede ocurrir por azar cuando se realizan comparaciones múltiples. Este problema aparece cuando un análisis estadístico implica la realización de test simultáneos múltiples. El nivel de significación generalmente se aplica a los test considerados individualmente, pero en el caso de comparaciones múltiples puede ser adecuado establecer un nivel de significación para todo el grupo de pruebas con el objetivo de evitar falsos positivos (error de tipo I). Por ello se ha aplicado la corrección de Bonferroni-Sidak para comparaciones múltiples, teniendo en cuenta que se han realizado 10 pruebas de evaluación del equilibrio genético Hardy-Weinberg (una por cada marcador). El resultado de esta corrección disminuye el nivel de significación hasta 0,0051, con lo cual el valor de probabilidad del test de equilibrio Hardy-Weinberg para este marcador pasa a ser no significativo.

El análisis de asociación general indica un riesgo significativamente mayor a desarrollar PCa en los individuos portadores del genotipo heterocigoto ($OR_{CG/CC+GG} = 1,478$; $p = 0,030$). Sin embargo, hay que destacar que, al desglosar el riesgo asociado a cada uno de los dos homocigotos, cuando se compara con el genotipo CC se observa un riesgo significativamente mayor ($OR_{CG/CC} = 1,979$; $p = 0,016$) que con el genotipo GG ($OR_{CG/GG} = 1,356$; $p = 0,110$). Por lo tanto, en este marcador, el heterocigoto se asocia a un mayor riesgo según un modelo sobredominante, sin embargo, los homocigotos no presentan el mismo efecto, siendo menor el riesgo del genotipo CC. En los estudios realizados hasta la fecha, en general el alelo G se asocia con una mayor expresión del IL-6 en contraposición al efecto del alelo C. Así, en este caso el máximo riesgo se correspondería con un nivel intermedio de expresión, mientras que la mayor protección se relacionaría con un nivel bajo. De todas maneras, esta interleuquina tiene efectos tanto pro- como anti- cancerígenos, además de múltiples interacciones con otros factores inflamatorios. Por todo ello es muy complicado relacionar los niveles de expresión de esta interleuquina con su efecto tumorigénico y explicar por qué niveles de expresión teóricamente intermedios serían cancerígenos. Una posible explicación podría estar vinculada a la interacción con otros factores como los que hemos utilizado para el análisis de estratificación.

Los OR obtenidos en la estratificación por edad mantienen de forma constante el genotipo heterocigoto como el de riesgo, con un OR estadísticamente significativo entre 60 y 69 años ($OR_{CG/CC} = 2,343$; $p = 0,038$). En el último intervalo de edad, a partir de 70 años, los valores de OR obtenidos son muy parecidos a los del análisis general. La principal diferencia observada con respecto a los resultados de este análisis general consiste en que los varones menores de 60 años presentan como genotipo de menor riesgo el homocigoto GG, mientras que en el resto de individuos el genotipo de menor riesgo sigue siendo el CC. Por lo tanto, independientemente de la edad, el genotipo heterocigoto parece manifestar efecto de riesgo, pero es posible que en edades bajas una mayor expresión de IL-6, asociada al homocigoto GG, sea protectora respecto al desarrollo del PCa y que esto no se mantenga para edades intermedias o elevadas.

En cuanto al consumo de tabaco, aunque la relación de riesgo y protección entre los genotipos varía a medida que el consumo aumenta, el heterocigoto se mantiene de manera clara como genotipo de mayor riesgo con la excepción del grupo de consumo elevado. También, el genotipo CC suele aparecer como el de menor riesgo, con un efecto protector significativo en el grupo de no fumadores ($OR_{CG/CC} = 3,123$; $p = 0,046$). Sin embargo, la evolución de la relación riesgo-genotipo en el caso del homocigoto GG es bastante compleja. Así, este genotipo aparece como el de riesgo intermedio en los no fumadores, presenta un riesgo prácticamente idéntico al heterocigoto en el grupo de bajo consumo, pasa a ser el de mayor carácter protector

en consumo intermedio y se convierte en el genotipo de mayor riesgo en el grupo de elevado consumo tabáquico. Por lo tanto, resulta complicado explicar este comportamiento y relacionarlo con los niveles de expresión asociados al genotipo GG. Quizás podría deducirse que, en el grupo de consumo elevado, ser portador de dos alelos G y, por lo tanto, tener un mayor nivel de expresión de la IL-6 podría vincularse al desarrollo de PCa, mientras que en el resto de grupos el riesgo estaría asociado al genotipo heterocigoto, tal y como sucede en el análisis general y por edad.

Por último, se analizó la influencia del IMC sobre el desarrollo de PCa. En el grupo de individuos con normopeso los resultados obtenidos sugieren un escenario de neutralidad, de modo que ningún genotipo parece manifestar mayor efecto de riesgo que otro. En el intervalo entre 26 y 32, es decir sobrepeso, el genotipo CG se manifiesta con un efecto de riesgo significativo con respecto a los dos genotipos homocigotos ($OR_{CG/CC+GG} = 1,665$; $p = 0,046$). En este caso la asociación sí que se ajusta claramente a un modelo sobredominante, ya que ambos homocigotos presentan un riesgo prácticamente idéntico ($OR_{GG/CC} = 0,972$; $p = 0,948$). Esta situación es diferente a la observada en el análisis general, en el cual el genotipo heterocigoto coincide en ser el de mayor riesgo, pero el efecto protector del genotipo CC es significativamente mayor que el de GG. Por último, en valores de IMC a partir de 32-33 el genotipo GG pasa a ser el de mayor riesgo, que llega a ser significativo al compararlo con el genotipo CC ($IMC \geq 33$: $OR_{GG/CC} = 6,43$; $p = 0,036$) (Fig. 64) que adquiriría un evidente efecto protector. De este modo, parece que para valores de IMC bajos no se manifiesta un riesgo o protección asociado a este marcador, pero sí a medida que el peso corporal aumenta, observándose un modelo de asociación sobredominante significativo en los individuos con sobrepeso (Tabla 47) y un cambio en el genotipo de riesgo (GG) en los individuos con obesidad, que se refleja en el brusco cambio de tendencia observado en la figura 64. Teniendo en cuenta la variación en la expresión generalmente asociada al alelo G, quizá la condición de obesidad haga que las células de la próstata sean más proclives a desarrollar el cáncer en presencia de mayores niveles de IL-6.

La bibliografía existente para este polimorfismo es muy extensa, con más de sesenta estudios de caso-control que abarcan más de 10 tipos de tumores y se extienden a múltiples grupos poblacionales (Tabla IV, Anexo 1). De todos ellos, 41 estudios obtuvieron resultados no significativos, entre los que se incluyen cinco trabajos de cáncer de próstata. En doce trabajos los resultados fueron significativos, con riesgo asociado al alelo G respecto al desarrollo de linfoma, cáncer gástrico, de mama, colorrectal, oral, hepatocelular, esofágico y de próstata. Por último, en 13 trabajos se obtuvieron OR significativos para riesgo vinculado al alelo C y al desarrollo de cáncer cervical, colorrectal, gástrico, de mama, oral, de vejiga, pulmón y leucemia. En los tres estudios que se han llevado a cabo en pacientes con PCa y han obtenido resultados significativos, el alelo G se ha asociado con riesgo a desarrollar el cáncer.

En cualquier caso, pese a que el rs1800795 de la IL-6 ha sido extensamente estudiado, no se puede extraer una conclusión clara, ya que no se ha alcanzado un consenso en el efecto concreto de este polimorfismo. Aunque algunos estudios vinculan al genotipo CC con el incremento de expresión, generalmente es el genotipo GG el que se ha asociado con un aumento en la producción de IL-6 (Çil *et al.*, 2014). Es importante tener en cuenta la elevada interacción de la IL-6 con otras moléculas importantes como TGF- β , NF- κ B u otras citoquinas, así como su participación en múltiples rutas de señalización, que se supone que pueden ser alteradas por el efecto de este cambio nucleotídico. En el caso concreto del PCa, ampliamente estudiado, se cree que el aumento de IL-6 en las regiones de la próstata afectadas por tumores puede deberse

a las alteraciones de varias rutas de señalización que están a su vez vinculadas con esas otras moléculas (Culig *et al.*, 2005; Nguyen *et al.*, 2014). Se han encontrado elevados niveles de IL-6 en la próstata con presencia de tumor y se cree que el aumento de IL-6 en un órgano concreto se asocia a las primeras fases del desarrollo del cáncer. Además, se cree que acelera el crecimiento tumoral mediante reclutamiento de células tumorales circulantes, que a su vez son el origen de la metástasis, fase de la enfermedad que también se asocia con la IL-6 (Azevedo *et al.*, 2011). En otro estudio se ha observado que se produce más o menos cantidad de IL-6 en el desarrollo del cáncer prostático dependiendo de si se trata de células epiteliales o estromales (Nguyen *et al.*, 2014).

Los resultados de este trabajo sugieren, en general, un mayor riesgo asociado al heterocigoto. Sin embargo, hay que señalar que, en la mayoría de los análisis, tanto a nivel general como en la estratificación, el homocigoto GG presenta mayor riesgo que el homocigoto CC, alcanzando esta relación valores significativos en el grupo de individuos con obesidad. Así, un mayor nivel de expresión de la IL-6, asociado al alelo G, implicaría un mayor riesgo a desarrollar cáncer de próstata, tal como se ha observado en estudios previos (Abbasabad *et al.*, 2018; Jureceková *et al.*, 2018; Mandal *et al.*, 2014).

4.2.5. INTERLEUQUINA 10 - rs1800896.

La IL-10 ejerce múltiples funciones vinculadas con la inflamación, desde la inhibición de la angiogénesis a la supresión de células inmunes como los macrófagos. Como citoquina inmunosupresora, la IL-10 inhibe la respuesta inmune contra el cáncer, de tal modo que un descenso en su producción podría mejorar la defensa contra dicha patología. Por otra parte, su función antiangiogénica plantea el caso contrario, ya que cuanto más síntesis de IL-10 menos angiogénesis y por tanto menor desarrollo de cáncer. En este trabajo se analiza el cambio nucleotídico de A por G en la posición -1081 de la región promotora del gen *IL-10* y su relación con el desarrollo de PCa. El hecho de que el polimorfismo esté localizado en la región promotora implica que dicho cambio puede producir una alteración en la transcripción del gen, de tal modo que la presencia de un alelo podría aumentar los niveles de transcripción mientras que el otro la reduciría. Los resultados obtenidos en este trabajo no son concluyentes, pero indican un posible efecto de riesgo asociado al alelo G del rs1800896.

Los resultados de OR generales muestran un efecto de riesgo para el genotipo GG, no significativo pero que nos permite establecer un patrón de comportamiento de dominancia/recesividad. Concretamente el alelo G sería recesivo y de riesgo en la muestra analizada. Teniendo en cuenta la variabilidad en los resultados publicados (Tabla V, Anexo 1), así como la pleiotropía en las funciones de esta citoquina, es especialmente importante el análisis estratificado para otras variables como edad, IMC y tabaquismo, que pueden influir en el ambiente celular y por lo tanto afectar a la interacción entre genotipo y desarrollo de procesos tumorigénicos.

La edad es la primera variable analizada en combinación con el genotipo del rs1800896. Para edades inferiores a 65 años el genotipo GG manifiesta efecto protector, pero a medida que aumenta la edad este efecto pasa a ser de riesgo, incrementándose progresivamente. Hasta los 68 años el genotipo en el que se observa mayor protección es el AG, mientras que a partir de dicha edad el efecto protector de los genotipos portadores del alelo A se iguala. En el intervalo

entre 65-75 años la presencia del alelo G ejerce un efecto de riesgo significativo, sobre todo en el caso de los homocigotos ($OR_{GG/AA} = 3,000$; $p = 0,017$). Los resultados obtenidos sugieren que los genotipos del rs1800896 no afectan de manera significativa al desarrollo de cáncer de próstata en los grupos de menor edad. Sin embargo, a medida que ésta aumenta, el alelo A confiere un progresivo efecto protector, que en ciertos rangos de edad será mayor en presencia de dos copias de dicho alelo, lo cual sugiere la existencia de un modelo de asociación codominante. Finalmente, en el grupo de edad más avanzada ambos genotipos portadores del alelo A pasan a tener un efecto protector similar y significativo ($OR_{GG/AG} = 3,173$, $p = 0,040$; $OR_{GG/AA} = 3,360$, $p = 0,048$) y por lo tanto el tipo de asociación pasa a ser dominante/recesivo.

Esta progresión del riesgo con el aumento de la edad asociada al alelo G tiene sentido desde un punto de vista biológico, ya que se está hablando de un marcador relacionado con la inflamación, un proceso que se hace más habitual con el paso de los años y que, además, tiene un efecto acumulativo. El envejecimiento celular se asocia tanto a la carcinogénesis como a la edad, al igual que la reducción de la capacidad de reparación de ADN y la acumulación de daño en el ADN. De este modo el efecto protumorigénico de la interleuquina puede no plasmarse en edades tempranas, pero sí cuando las células han acumulado daños y procesos inflamatorios relacionados con la edad y con la reducción de homeostasis asociada.

El tabaquismo no parece mostrar una asociación tan estrecha con el desarrollo de PCa y el marcador estudiado, ya que ningún OR calculado es estadísticamente significativo. El tabaquismo es una variable con una cuantificación más compleja y amplia que en el caso de la edad y el IMC, ya que alcanza valores de *pack-years* muy elevados. Esto podría hacer más complicada una visualización clara de patrones en el riesgo que implica un genotipo asociado al consumo de tabaco y, a su vez, reducir la asociación estadística entre variables. Pese a esto se observan resultados interesantes en algunos de los intervalos estudiados. Mientras que, entre 0 y 20 PY, el riesgo asociado al genotipo GG es considerablemente bajo, entre 20-30 PY, un consumo de tabaco intermedio, el riesgo para GG respecto a GA aumenta de forma remarcable ($OR = 3,461$; $p = 0,149$) pero no estadísticamente significativa. A partir de 30 PY dicho riesgo vuelve a descender, aunque no tanto como en el primer intervalo. Es habitual encontrar un patrón semejante a este en lo que respecta a la relación entre tabaquismo y marcadores inflamatorios en la muestra estudiada, con valores de riesgo mayores en la zona de consumo intermedio-alto. Estos resultados podrían deberse al daño asociado a un consumo de tabaco alto. Es decir, llegado a cierto nivel de consumo tabáquico los daños producidos hacen que el efecto vinculado al hecho de portar un genotipo u otro no implique diferencias en el desarrollo. Dicho de otra forma, habría un punto a partir del cual el efecto de un genotipo en cuanto a desarrollo de PCa dejaría de ser visible debido al elevado riesgo asociado al alto consumo de tabaco.

En los valores de IMC por debajo del sobrepeso, los OR muestran un mayor riesgo relacionado con el genotipo GG siguiendo un modelo codominante, mientras que a medida que aumenta el IMC, dicho genotipo tiende a mostrar un efecto cada vez más neutro. Así, el riesgo asociado a GG baja en el grupo con sobrepeso y sigue esa tendencia a partir de dichos valores hasta que desaparece totalmente en el grupo con obesidad. En todos los casos los resultados son estadísticamente no significativos. Una posible explicación para este comportamiento sería un aumento en la cantidad de adipoquinas y su actividad al aumentar la grasa corporal, que implica un aumento importante del riesgo de desarrollar cáncer. De esta forma el peso específico del marcador estudiado se vería reducido y, por lo tanto, se reduciría el riesgo que pudiera implicar ser portador del genotipo GG.

Al realizar una revisión bibliográfica del marcador en relación al PCa nos hemos encontrado con cierta controversia en los resultados. Remontándonos al año 1997, Turner y colaboradores comprobaron que el polimorfismo en posición -1082G>A alteraba a su vez la capacidad de expresión de la IL-10. En 2002 el equipo de McCarron publicó un artículo en el cual afirmaban que el genotipo AA para este polimorfismo implicaba una baja producción de IL-10 y con ello un mayor riesgo a desarrollar PCa (OR 1,78 (1,14-2,77)). Esta conclusión se basaba, sobre todo, en el efecto antiangiogénico de la interleuquina, de modo que el genotipo que redujera su producción aumentaría sinérgicamente la angiogénesis. Xu y colaboradores (2005), así como Michaud (2006), publicaron en sus respectivos artículos resultados no significativos, en los que no se consiguió encontrar una asociación clara entre el rs1800896 y el riesgo de PCa. En el 2007 Tarja Eder y colaboradores publicaron un estudio sobre el haplotipo formado por los polimorfismos de IL-10 -1082, -819 y -592, concluyendo que la variante [ATA] implicaba menor expresión de IL-10 y con ello mayor riesgo a desarrollar PCa, concordando en principio con el estudio anterior. Faupel-Badger y colaboradores (2008) publicaron un estudio en el que se observaba un mayor riesgo asociado al genotipo AA, aunque no se alcanzaba significación estadística. Este estudio también incluía un análisis del haplotipo de cuatro polimorfismos de este gen *IL-10*, entre los que se encontraba el polimorfismo rs1800896. Encontraron que el homocigoto [ATAT] incrementaba el riesgo de PCa, con resultados estadísticamente significativos. Ese mismo año se publicó un artículo que también estudiaba este SNP (Zabaleta *et al.*, 2008), en el que se concluía que el genotipo GG implicaba riesgo, mientras que el genotipo homocigoto AA reducía el riesgo a padecer PCa en población caucasoide (OR 1,36 (0,93-2,00)). Se han encontrado dos artículos publicados en el año 2009, el primero de ellos de Kesarwani y colaboradores, en el que afirman que la variante alélica GG implica baja producción de proteína IL-10. Sus resultados muestran que IL-10 -1082 AG y AA se asocian con susceptibilidad al PCa (OR 2,8 (1,26-6,14) y OR 2,3 (1,05-5,14) respectivamente), es decir, consideran el alelo A como el alelo de riesgo (OR 1,26 (0,94-1,69)), siendo el genotipo AA más prevalente en pacientes que en controles. El segundo artículo de ese año es el de Wang y colaboradores, que concluyen que el heterocigoto AG es de riesgo frente al homocigoto GG (OR 1,69 (1,10-2,6)) y el homocigoto AA frente a GG presenta un riesgo ligeramente mayor (OR 1,81 (1,11-2,96)), en ambos casos estadísticamente significativo. Es decir, en resumen, el alelo A parece implicar un riesgo incrementado de desarrollar PCa. En 2010 VanCleave y su equipo, publican un estudio con una clara diferencia entre el número de casos (193) y controles (666) en el que concuerdan que el heterocigoto tiene más riesgo que cualquiera de los dos homocigotos y que la presencia del alelo A implica riesgo sobre la ausencia del mismo (OR 1,21 (0,87-1,68)). Sin embargo, sus resultados no son estadísticamente significativos. Por último, en el 2012, el equipo de Dluzniewski publicó un artículo en el que concluyen que hombres con una copia (OR 0,66 (0,48-0,91)) o dos copias (OR 0,74 (0,51-1,06)) de la variante alélica G tienen menor riesgo de recurrencia de PCa que los hombres con dos copias del alelo A, en especial en hombres de más edad. Este polimorfismo también se ha estudiado en relación al desarrollo de otros tipos de cáncer con resultados tan variados como en el cáncer de próstata (Tabla V, Anexo 1).

En conclusión, el análisis global de nuestra muestra no detecta diferencias significativas entre el riesgo de desarrollar cáncer de próstata asociado a los genotipos del rs1800896. Sin embargo, sí que se ha encontrado una relación estadística significativa entre la progresión de la edad, la presencia del alelo G y el riesgo a desarrollar PCa. En relación a la estratificación por tabaquismo e IMC se han observado patrones en su comportamiento, pero estos resultados no son estadísticamente significativos. Hay que señalar que en gran parte de los estudios previos

se ha descrito como variante de riesgo el alelo A, al contrario de lo que se observa en nuestro estudio, aunque también es verdad que existen varios estudios que describen un efecto de riesgo del alelo G.

Para explicar y analizar estos resultados contradictorios hay que considerar la función biológica dual de la IL-10, que recordemos tiene papel anti-tumorigénico (antiangiogénico) pero también protumorigénico (antiinflamatorio), por lo que el cambio de un alelo a otro podría contribuir en algunos casos a inclinar la balanza de una función a otra. Además, hay que tener en cuenta las variaciones que pueden existir en el riesgo asociado a los genotipos al estudiar diferentes agrupaciones de la muestra, definidos en el análisis estratificado. En este sentido, es importante indicar que este tipo de análisis estratificado no se realiza de forma sistemática en todos los trabajos de asociación entre marcadores genéticos y desarrollo de patologías, por lo que en muchos casos la comparación de los resultados puede resultar problemática.

4.2.6. INTERLEUQUINA 17A - rs2275913.

La inflamación y las citoquinas implicadas en su desarrollo (como IL-6, IL-10, IL-17, etc.) juegan un importante papel en la aparición del PCa, tal y como evidencian múltiples estudios, de tal modo que elevados niveles de citoquinas proinflamatorias suelen relacionarse con el desarrollo del tumor (Braicu *et al.*, 2007; Eder *et al.*, 2007; Eiró & Vizoso, 2012; Michaud *et al.*, 2006; Zabaleta *et al.*, 2008). Estudios recientes sugieren que la IL-17 es una citoquina proinflamatoria esencial que podría provocar la secreción de otras citoquinas y quimioquinas a través de distintos tipos celulares, tales como células mesenquimáticas y células mieloides, para retener monocitos y neutrófilos en el microambiente inflamatorio (Iwakura, Ishigame, Saijo, & Nakae, 2011). En diferentes estudios se ha comprobado que variaciones de un único nucleótido en las regiones promotoras, como el rs2275913, pueden afectar a las funciones de estos genes y a su expresión proteica, influyendo así en la proliferación celular y en el riesgo de desarrollar cáncer (C. Chen *et al.*, 2015; Faupel-Badger *et al.*, 2008; Mandal *et al.*, 2014). En este apartado se ha investigado la posible relación entre el polimorfismo rs2275913 del gen *IL-17A* y el incremento de riesgo a desarrollar PCa. Además, tal y como se ha llevado a cabo en todos los marcadores se han explorado las interacciones entre gen y ambiente y el desarrollo de dicho cáncer.

Los datos obtenidos en el análisis general parecen sugerir que el genotipo heterocigoto, AG, confiere cierto grado de protección ($OR_{AA+GG/AG} = 1,19$; $p = 0,379$) siguiendo un modelo de sobredominancia. Es posible que el efecto protector del genotipo heterocigoto esté asociado a una producción de proteína no totalmente funcional o una expresión menor de dicha proteína, ya que se ha asociado una elevada concentración de la citoquina con un efecto cancerígeno. Dado que ninguno de los resultados obtenidos es estadísticamente significativo, es especialmente relevante llevar a cabo el análisis de la muestra estratificada.

La primera variable de estratificación analizada es, al igual que en los marcadores anteriores, la edad. La influencia de la variabilidad genética de la IL-17A sobre el desarrollo del PCa no se refleja en edades tempranas, sino que empieza a hacerse visible a medida que aumenta la edad, en especial a partir de 75 años. En este grupo de edad se observa un claro aumento del efecto protector del heterocigoto frente a los homocigotos en grupos de edad elevada ($OR_{GG+AA/AG} = 5,77$; $p = 0,079$) aunque no llega a alcanzar magnitudes significativas. Los

resultados obtenidos, por tanto, apuntan a que el genotipo AG presenta carácter protector en comparación con los homocigotos AA y GG, que funcionan como genotipos de riesgo, sobre todo a medida que aumenta la edad, en el contexto de un modelo sobredominante. En otras palabras, la presencia simultánea de ambos alelos en el genotipo heterocigoto produce un efecto protector mientras que la presencia de un único alelo tiene efecto de riesgo. Hay distintos factores celulares que podrían explicar esta relación. Por un lado, el envejecimiento celular es un factor asociado a la carcinogénesis y a la edad (Finkel, Serrano, & Blasco, 2007), aunque también se podría explicar por la reducción de la capacidad de reparación de ADN vinculada al envejecimiento o a la acumulación de daño en el ADN. La inflamación en sí misma está vinculada a la integridad y funcionalidad del ADN (Rook & Dalgleish, 2011), de modo que la eficacia de la interleuquina, que a su vez está directamente implicada en el proceso inflamatorio, puede plasmarse en riesgo diferencial en edades avanzadas. Es decir, en un momento de la vida de las células en que se ha acumulado gran cantidad de daño debido a la elevada edad y a la reducción de la homeostasis que ello implica.

En cuanto al tabaquismo, se observa un incremento del impacto negativo de los genotipos homocigotos a medida que se incrementa el número de *pack-years*. En el sector de la población con consumo tabáquico moderado, entre 10 y 32 PY, el genotipo heterocigoto AG se comporta significativamente como un genotipo protector en el desarrollo de PCa ($OR_{AA+GG/AG} = 2,95$; $p = 0,032$) sobre todo cuando se compara con el genotipo GG ($OR_{GG/AG} = 3,795$; $p = 0,025$). Esto refuerza la idea de un modelo de asociación sobredominante en este rango de consumo tabáquico. Este modelo de asociación cambia radicalmente en los individuos de consumo elevado, donde se pasa a un modelo codominante (aunque no significativo) con un efecto protector máximo del genotipo GG y mínimo del genotipo AA. Una posible explicación para este comportamiento sería que a medida que se incrementa el daño por consumo tabáquico el efecto protector del genotipo heterocigoto se diluye hasta el punto de que los genotipos homocigotos ya no presentan un riesgo significativamente mayor que el del heterocigoto. De hecho, el modelo de asociación codominante observado en este grupo de individuos refleja un aumento del riesgo proporcional al número de copias del alelo A, que a su vez se podría relacionar con una mayor concentración de IL-17A (Espinoza *et al.*, 2011).

Finalmente, los valores obtenidos en el análisis del IMC apuntan a que el genotipo heterocigoto AG ejerce función protectora, en individuos con sobrepeso y obesidad, cuando se compara con los homocigotos AA y GG, sobre todo a partir de valores de IMC mayores de 33 ($OR_{AA+GG/AG} = 3,54$; $p = 0,055$). El efecto de riesgo es especialmente notable en el genotipo AA, y empieza a manifestarse a partir de valores de IMC por encima de la media de la población analizada ($OR_{AA/AG} = 2,75$; $p = 0,061$). El aumento de tejido adiposo es un factor de riesgo para múltiples patologías, como enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo II, etc. Además, la obesidad se ha asociado con la inflamación crónica, el aumento de producción de citoquinas inflamatorias y alteraciones en la actividad de las células inmunitarias añadidas a la producción de células inflamatorias mediadoras (Lavie, Milani, & Ventura, 2009; Zeyda & Stulnig, 2007). La complejidad del proceso inflamatorio puede estar en la base del efecto protector del genotipo heterocigoto del rs2275913 a medida que aumenta el IMC. En estas circunstancias niveles de expresión intermedios del *IL-17A* podrían minimizar el riesgo mientras que el aumento o descenso de la expresión asociados a los genotipos homocigotos parecen maximizarlo. Para terminar de complicar el escenario de la asociación entre los genotipos del rs2275913, el cáncer de próstata y el índice de masa corporal, en el grupo de individuos con normopeso se invierte la asociación pasando a ser el heterocigoto el genotipo con mayor riesgo. De todas maneras, al

igual que ocurría en el grupo de sobrepeso, los valores de OR no alcanzan el nivel de significación, aunque se sitúan bastante cercanos a él.

En la bibliografía se pueden encontrar varios trabajos que relacionan este SNP con el riesgo a desarrollar diversos tipos de cáncer, sin embargo, ninguno se ha realizado con PCa en población europea. Los resultados obtenidos en estos estudios son muy variados. En varios casos los resultados publicados no son estadísticamente significativos (Y.-W. Gao *et al.*, 2015; Kutikhin *et al.*, 2014; Y. C. Lee *et al.*, 2015; Xi *et al.*, 2015) mientras que otros sí han obtenido resultados con asociaciones significativas, sobre todo al ajustar los OR utilizando distintos factores como edad, grupo poblacional o tabaquismo. Los cánceres estudiados van desde el cervical y gástrico, con elevado número de artículos, al cáncer hepatocelular, colorrectal, esofágico, de mama, vejiga, pulmón, tiroides y ovario. En los artículos para cáncer cervical en población asiática, ya que no hay ninguno para otras poblaciones, siempre se ha observado como alelo de riesgo el alelo A. En estos casos el genotipo AG aparece con efecto intermedio al de los homocigotos (Cong *et al.*, 2015; L Li *et al.*, 2015; Lv *et al.*, 2015; Quan *et al.*, 2012; Sun, Wang, & Huang, 2015). En otros tipos de tumores menos estudiados se encuentran resultados menos homogéneos. Entre aquellos que obtuvieron resultados significativos se encuentra el estudio de cáncer de mama de Wang *et al.* (2012) en el que se observa un OR para AA/AG+GG de 1,76 (1,24-2,51), resultado semejante al obtenido por Zhou *et al.* (2013) para cáncer de vejiga (AA/GG = 1,82 (1,19-2,78)). En uno de los dos estudios publicados para cáncer de pulmón se observó riesgo estadísticamente significativo para el genotipo AA (OR_{AA/GG} = 1,88 (1,18-3,00)) (Y. He *et al.*, 2015). En cáncer colorrectal se han encontrado dos artículos con resultados estadísticamente significativos: el de Omrane *et al.* (2014) describe efecto de riesgo asociado a AA (OR_{A/G} = 2,14 (1,10-4,15)) mientras que Nemati *et al.* (2015) observaron que el riesgo lo manifiestan los portadores de ambos alelos (OR_{AG/AA} = 3,638 (1,814-7,296)). El cáncer gástrico es, con diferencia, el más estudiado. Todos los artículos de población asiática muestran riesgo para AA, siendo AG un atenuante del riesgo respecto de AA (Arisawa *et al.*, 2012; Hou & Yang, 2015; Qinghai, Yanying, Yunfang, Xukui, & Xiaoqiao, 2014; Rafiei *et al.*, 2013; Shibata, Tahara, Hirata, & Arisawa, 2009; N. Wang *et al.*, 2014; B. Xu *et al.*, 2016; Zhu Zhang *et al.*, 2014) en la mayoría de los casos con valores de OR estadísticamente significativos.

En alguno de los estudios que relacionan el rs2275913 con el desarrollo del cáncer se ha planteado que el alelo A implica mayor concentración de IL-17 en sangre periférica y con ello favorece el desarrollo de enfermedades como los tumores. Sin embargo, no todos los resultados obtenidos apoyan esta hipótesis (Espinoza *et al.*, 2011; Nemati *et al.*, 2015; Wróbel *et al.*, 2014; X. Zhang, Zheng, Sun, & Zhang, 2014). En nuestro estudio el hecho de que el genotipo heterocigoto tenga efecto protector en comparación con ambos homocigotos implica que no solo el alelo A tiene efecto de riesgo sobre el desarrollo de PCa, sino que bajas concentraciones de IL-17 también podrían tener un efecto cancerígeno en determinadas circunstancias celulares. En este sentido, la IL-17 interacciona con múltiples moléculas en su actividad inmunológica, de modo que cambios en la expresión de un gen podrían afectar a las rutas celulares de múltiples formas. Además, hemos observado como en el análisis de estratificación en unas ocasiones el genotipo AA es el de máximo riesgo y en otros el de máxima protección, lo cual refuerza la idea de que en diferentes condiciones los mismos niveles de citoquinas pueden causar efectos muy variados.

En resumen, este análisis muestra una posible asociación entre el rs2275913 del *IL-17A* y el desarrollo de PCa que podría estar influenciado por la edad, el IMC y, sobre todo, el

tabaquismo. Sin embargo, hay que destacar que el efecto de los diferentes genotipos observado en los análisis de estratificación es bastante heterogéneo. Esto significa que genotipos que aparecen como protectores en unos grupos pueden ser de riesgo en otros.

4.2.7. MIF - rs2070767.

El factor inhibidor de la migración de macrófagos, comúnmente llamado MIF, tiene funciones esenciales en la regulación del sistema inmune. Es una citoquina con funciones proinflamatorias, que media la inflamación estimulando e inhibiendo ciertos tipos de citoquinas. Actúa en macrófagos, pero también sobre ellos, de modo que regula su función, así como la de los linfocitos. En lo que respecta al desarrollo tumoral el MIF promueve la proliferación celular y la diferenciación, inhibe el efecto del p53, tiene actividad antiapoptótica y proangiogénica. Todas estas funciones se han estudiado también en relación al desarrollo del cáncer de próstata. Concretamente, se han encontrado niveles elevados en pacientes de PCa y se lo ha relacionado con un peor pronóstico y con la aparición de la enfermedad. También se lo vincula a la metástasis y a un mayor estadio de Gleason. En cuanto al SNP analizado en este trabajo, no se ha encontrado ningún estudio de caso-control, por lo que la interpretación de los resultados se ha hecho basándose en las funciones de la citoquina y en el efecto potencial del polimorfismo, situado en la zona próxima al extremo 3' UTR del gen.

Debido a la frecuencia relativamente baja del alelo T el número de homocigotos TT detectados en la muestra es muy reducido. Esto puede implicar una disminución en la robustez de los análisis estadísticos utilizados. Así, pequeñas variaciones de la frecuencia de este genotipo en los diferentes grupos analizados pueden tener un efecto drástico en la magnitud de los OR, lo que repercute en la metodología estadística, sobre todo cuando se llevan a cabo los análisis de estratificación.

En el análisis general de la muestra los individuos portadores del alelo C parecen presentar un efecto de riesgo similar en lo que respecta al desarrollo de PCa, lo que sugeriría la existencia de un modelo de dominancia/recesividad ($OR_{CC/TT} = 2,271$; $p = 0,129$. $OR_{CT/TT} = 2,567$; $p = 0,090$). Dado que el efecto general de esta citoquina es cancerígeno cabe suponer que el alelo C tendría un efecto de sobre regulación sobre el MIF. El polimorfismo rs2070767 afectaría a la estabilidad del transcrito de manera que la presencia del alelo C podría hacer más estable el ARN, de tal modo que se sobreexpresara la citoquina proinflamatoria y cancerígena MIF. En estudios llevados a cabo con otros polimorfismos del gen *MIF* se ha observado mayor cantidad de la proteína y del ARNm en tumores, incluido el tejido prostático tumoral, pareciendo clara la relación entre el desarrollo de la enfermedad y la presencia y actividad del MIF (KL Meyer-Siegler *et al.*, 2007; Razzaghi, Mazloomfard, Malekian, & Razzaghi, 2019).

Al realizar la estratificación por edad se observa un cambio en el comportamiento de este marcador, de tal modo que para varones de menor edad aparece una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo y el desarrollo de PCa, con el máximo riesgo vinculado al heterocigoto ($OR_{CT/TT} = 14,444$; $p = 0,006$), mientras que el genotipo CC presenta un riesgo intermedio ($OR_{CC/TT} = 6,447$; $p = 0,059$). De este modo, la relación genotipo-PCa ya no seguiría un modelo de dominancia, ya que cada uno de los tres genotipos presenta un valor de riesgo diferente, siendo el de mayor riesgo el heterocigoto, con lo que nos encontramos con una situación de sobredominancia. En cambio, a partir de 65 años el riesgo de todos los varones con

genotipos portadores del alelo C vuelve a ser muy parecido, pasando por tanto a comportarse según un modelo de dominancia/recesividad, aunque en este caso la asociación es muy débil y claramente no significativa.

En la estratificación en función del consumo tabáquico el efecto de riesgo manifestado por el alelo C respecto al genotipo TT parece ser máximo en los individuos no fumadores, volviendo a ser el genotipo heterocigoto el de mayor riesgo, con valores cercanos a la significación ($OR_{CC/TT} = 4,762$; $p = 0,128$ $OR_{CT/TT} = 7,500$; $p = 0,052$). En individuos con bajo consumo tabáquico este efecto parece reducirse mientras que, en el rango de consumo intermedio, ambos alelos parecen ejercer un efecto neutro, llegando a ser protector el heterocigoto. Finalmente, en los individuos de consumo elevado el riesgo vuelve a asociarse a los portadores del alelo C, aunque siempre con resultados no significativos ($OR_{CC/TT} = 2,640$; $p = 0,400$. $OR_{CT/TT} = 4,200$; $p = 0,204$). Es importante destacar la necesidad de utilizar un método de ajuste para calcular aquellos OR obtenidos a partir de una tabla de contingencia en la cual el valor de la celda TT es igual a 0. Para solucionar esta imposibilidad estadística se utilizó el método de añadir una unidad a cada una de las celdas. Este método es muy conservativo y tiende a infravalorar las diferencias, tal y como demuestra el hecho de que el valor de significación utilizando el estadístico χ^2 a partir del recuento original es bastante mayor. Por ejemplo, el $OR_{CT/TT}$ para individuos no fumadores sería significativo utilizando el recuento original ($p = 0,052$ vs $p = 0,023$).

Respecto al IMC, parece aumentar el riesgo asociado al alelo C a medida que se incrementa esta variable, siguiendo un modelo sobredominante. De hecho, en los individuos con bajo y normopeso el riesgo se asocia al alelo T, aunque con valores de OR no significativos. Sin embargo, en los individuos con sobrepeso es el heterocigoto el que tiene un efecto de riesgo elevado y significativo ($OR_{CT/TT} = 16,909$; $p = 0,002$) mientras que el efecto de riesgo del genotipo CC es considerablemente menor pero aun significativo ($OR_{CC/TT} = 8,914$; $p = 0,020$). Finalmente, no se observa ningún efecto asociado al genotipo en varones con obesidad ($OR_{CC/TT} = 0,933$; $p = 0,962$. $OR_{CT/TT} = 1,250$; $p = 0,879$). En este caso se ha descrito una relación entre obesidad y la respuesta inflamatoria crónica, así como entre el MIF y el IMC. En trabajos con modelos animales se han obtenido resultados que apoyan dicha relación, sugiriendo un vínculo biológico entre el nivel de expresión de MIF y el grado de sobrepeso y obesidad (Nishihira & Sakaue, 2012). Los adipocitos liberan MIF y se ha observado que este factor a su vez participa en la diferenciación de adipocitos (B.-S. Kim, Pallua, Bernhagen, & Bucala, 2015). Sin embargo, llega un momento en que los adipocitos diferenciados segregan otro tipo de citoquinas diferentes del MIF, que también pueden tener funciones proinflamatorias y cancerígenas. Por ello podemos suponer que en los individuos con sobrepeso el efecto del MIF es más evidente mientras que, en individuos obesos la aparición de nuevos factores proinflamatorios podría enmascarar dicho efecto.

Generalmente se ha asociado la sobreexpresión del MIF al desarrollo tumoral, así como a un peor pronóstico de la enfermedad en varios tipos de cáncer, entre los que se encuentra el cáncer de próstata (Meyer-Siegler *et al.*, 2007; Muramaki *et al.*, 2006). Esta asociación se basa por una parte en los niveles de MIF detectados en las áreas tumorales y en los pacientes de cáncer y por otra parte en las múltiples funciones cancerígenas de esta citoquina, entre las que destacan su papel en la angiogénesis, su efecto antiapoptótico y la regulación de factores de transcripción y citoquinas con efecto sobre el cáncer. Concretamente en la próstata, el MIF mantiene la funcionalidad de los macrófagos mientras que su presencia en el fluido prostático podría contribuir a los efectos inmunosupresores del plasma seminal (Bach *et al.*, 2009; Hussain

et al., 2013; Vera & Meyer-Siegler, 2011). Habida cuenta de la ausencia de estudios relacionando la funcionalidad del MIF con las variantes alélicas del rs2070767, y teniendo en cuenta el efecto de riesgo del alelo C detectado en algunos grupos de la muestra, se podría deducir que dicha variante aumenta la eficiencia de la acción del MIF.

4.2.8. TNF-A rs1799964.

El TNF- α es una citoquina inflamatoria producida en múltiples tipos celulares, incluidas células tumorales. Está presente en el organismo en forma sérica y transmembrana, y en ambos casos lleva a cabo múltiples funciones. Promueve la respuesta inmune, mantiene la inflamación crónica, actúa sobre la regeneración y degeneración tisular, así como sobre la apoptosis y supervivencia celular. En relación al desarrollo del cáncer, el TNF- α está asociado no solo con la inflamación sino también con la angiogénesis, ambos procesos especialmente relevantes en el inicio y progresión de tumores. Por lo tanto, sus funciones tienen en principio efectos protumorigénicos, aunque como se ha comentado en la introducción, algunos estudios describen también efectos anti-tumorigénicos (Landskron *et al.*, 2014; Royuela *et al.*, 2008). En cuanto al rs1799964, se ha estudiado ampliamente relacionado con múltiples patologías, entre las que se encuentra el cáncer y, más concretamente, el cáncer de próstata. En varios estudios se describen niveles elevados de TNF- α asociados al alelo C del SNP rs1799964, que se han vinculado al aumento de riesgo de desarrollar cáncer y a un peor grado y pronóstico de la enfermedad (Kesarwani, Mandhani, & Mittal, 2009; C. Shen *et al.*, 2011). Sin embargo, no todos los resultados obtenidos en los estudios de caso-control han mostrado una asociación significativa entre el genotipo y el desarrollo del cáncer (Tabla VII, Anexo 1).

La distribución alélica de nuestra muestra es semejante a la de Europa, con menos de un 30% de individuos portadores del alelo C. De éstos, menos del 10% portan ambas copias de dicho alelo. En el contexto de las poblaciones europeas, en la muestra analizada en este trabajo se observa una frecuencia del alelo C muy elevada (0,258), sobre todo si lo comparamos con los datos de población española (0,178). Sin embargo, este valor es significativamente inferior a los observados en el sur de Asia (0,3-0,4).

En el análisis general de la muestra ambos homocigotos parecen mostrar un efecto de riesgo similar respecto al heterocigoto, lo que se correspondería con un modelo genético de sobredominancia ($OR_{CC+TT/CT} = 1,265$; $p = 0,261$) aunque los valores de OR obtenidos no son estadísticamente significativos. Generalmente en los estudios realizados hasta el momento se asocia el alelo C a una mayor expresión de TNF- α y al incremento de riesgo a desarrollar cáncer (Kesarwani, Mandhani, *et al.*, 2009; Sugimoto *et al.*, 2007). Sin embargo, también existen algunos estudios en los que el riesgo se asocia al alelo T, aunque en diferentes tipos de cáncer (Karakaxas *et al.*, 2014; X. Li *et al.*, 2018).

La edad es la primera variable utilizada en el análisis de estratificación y en este caso, ninguno de los OR calculados muestra resultados estadísticamente significativos. En los varones con edad por debajo de 63 años el genotipo homocigoto TT mostraría riesgo mientras que CT presentaría riesgo intermedio y CC se asociaría a un efecto protector ($OR_{TT/CT} = 1,283$; $p = 0,537$. $OR_{CC/CT} = 0,783$; $p = 0,779$). Parece que ambos genotipos homocigotos podrían ejercer cierto riesgo en el rango de edad intermedia, entre 63 y 69 años, siguiendo un modelo de sobredominancia, tal y como sucedía con el análisis global ($OR_{TT/CT} = 1,908$; $p = 0,074$).

$OR_{CC/CT} = 2,826$; $p = 0,225$). Por último, al contrario de lo que ocurría en los menores de 63, en el grupo de varones de mayor edad sería el genotipo CC el que tendría mayor efecto de riesgo y TT el mayor efecto protector ($OR_{TT/CT} = 0,673$; $p = 0,300$. $OR_{CC/CT} = 2,571$; $p = 0,479$). De este modo, a medida que aumenta la edad una mayor concentración de TNF- α sérico, generalmente asociada al alelo C, podría provocar un mayor riesgo a desarrollar PCa.

En individuos no fumadores el genotipo CC tiene efecto de riesgo, mientras que tanto TT como CT tendrían efecto protector, con valor intermedio para el genotipo heterocigoto ($OR_{CC/CT} = 3,040$; $p = 0,318$; $OR_{TT/CT} = 0,548$; $p = 0,116$). En varones fumadores el riesgo asociado a ambos homocigotos se incrementa a medida que lo hace el consumo tabáquico. Pese a que este incremento en el OR es más evidente en el grupo de individuos CC ($OR_{CC/CT} = 4,079$; $p = 0,093$), solo se han obtenido valores estadísticamente significativos a partir de 40 PY, al comparar el genotipo TT respecto al heterocigoto ($OR_{TT/CT} = 2,331$; $p = 0,025$). Esta aparente contradicción en los niveles de significación obtenidos probablemente se debe al bajo número de individuos CC que aparecen en este subgrupo de la muestra. Estos resultados podrían estar relacionados con los obtenidos en el estudio de Yang y colaboradores (2009) en el que independientemente del componente genético se obtienen valores de riesgo estadísticamente significativos para consumo tabáquico por encima de 40 PY. En este caso se considera al tabaquismo un factor de riesgo independiente para el desarrollo de cánceres como el gástrico o el hepatocelular, ya que el consumo recurrente de tabaco activaría la inflamación sistémica mediante la alteración en la producción de citoquinas y otras moléculas inflamatorias (J. J. Yang *et al.*, 2009). En estas circunstancias de mayor riesgo asociado a un elevado consumo tabáquico, diferentes concentraciones de TNF- α pueden tener un mayor impacto en el desarrollo del cáncer, que en nuestro caso se relacionaría con los niveles de expresión determinados por los homocigotos y por lo tanto con un modelo de asociación sobredominante. Sin embargo, cuando en otros trabajos se realizó la estratificación entre no fumadores y fumadores esporádicos y habituales los resultados obtenidos no fueron estadísticamente significativos (Kietthubthew *et al.*, 2010; Sakamoto *et al.*, 2008), aunque hay que tener en cuenta que en estos casos se trabajaba con otros tipos de cáncer diferentes del de próstata y en muestras de diferente origen geográfico.

En el análisis de IMC se observa un descenso progresivo del riesgo asociado a los genotipos homocigotos hasta que prácticamente desaparece a partir del valor medio de IMC de la muestra ($OR_{CC+TT/CT} = 0,940$; $p = 0,842$). Para valores por debajo de 28 ambos homocigotos muestran un claro efecto de riesgo respecto al heterocigoto, con valores estadísticamente significativos para el modelo sobredominante y la comparación de TT respecto a CT ($OR_{TT/CT} = 2,076$; $p = 0,035$. $OR_{CC+TT/CT} = 2,100$; $p = 0,030$). De nuevo el valor de OR calculado para el genotipo CC, a pesar de ser más alto que el resto ($OR_{CC/CT} = 2,417$) no es significativo ($p = 0,302$) debido al bajo número de individuos de este genotipo. Generalmente se asocia un incremento en el riesgo a desarrollar cáncer con un mayor IMC, debido, sobre todo, a los efectos protumorigénicos asociados a las adipoquinas producidas en exceso en casos de obesidad (Gallicchio *et al.*, 2007). Quizá, como ya se ha hipotetizado con anteriores marcadores, el descenso del riesgo observado al aumentar el IMC en casos como el TNF- α se deba al efecto de las adipoquinas producidas en el tejido adiposo, que minimizaría el impacto del factor genético.

En lo que respecta a otros estudios de tipo caso-control publicados hasta el momento analizando la posible relación entre el rs1799964 y el desarrollo de cáncer, los resultados son variados y no concluyentes. Se han estudiado diversos tipos de cáncer, que incluyen los más comunes como gástrico, mama, hepatocelular o próstata. De la misma forma también se ha trabajado con múltiples poblaciones del mundo, desde EEUU hasta la India o China. La mayoría

de estudios obtuvieron resultados estadísticamente no significativos (Tabla VII, Anexo 1). En ocho trabajos, por el contrario, los resultados fueron en algún caso estadísticamente significativos, aunque muy heterogéneos. En un estudio con cáncer de ovario se observó que el genotipo TT parecía ejercer efecto protector, mientras que el heterocigoto pasaba a ser el genotipo de riesgo ($OR_{TC/TT+CC} = 1,81$ (1,30-2,51)) (Deepika *et al.*, 2013). En un complejo análisis con distintos tipos de cáncer de páncreas se obtuvieron valores de OR significativos dependiendo del tipo de tumor, siempre con riesgo para los portadores del genotipo TT ($OR_{TT/CC} = 16,21$ (3,18-82,67 en cáncer pancreático neuroendocrino; $OR_{TT/CC} = 10,5$ (2,35-115,95) en IPMN) (Karakaxas *et al.*, 2014). De la misma manera, en el estudio de Li y colaboradores (2018) los resultados parecen asociar el alelo T al mayor riesgo a desarrollar cáncer cervical, pero el modelo genético utilizado en este caso no está claro ($OR_T = 3,16$ (2,33-4,28)). En el resto de estudios se obtuvieron algunos resultados estadísticamente significativos, asociando el riesgo a desarrollar distintos tumores al alelo C. En uno de ellos, llevado a cabo en población de EEUU y Polonia, los resultados vinculan el riesgo a desarrollar cáncer de mama al genotipo CC ($OR_{CC/TT} = 1,29$ (1,01-1,65)) mientras que el hecho de portar una o dos copias del alelo T tendría un efecto idéntico (Gaudet *et al.*, 2007). En dos estudios con cáncer gástrico (Sugimoto *et al.*, 2007; Sultana *et al.*, 2018) se obtuvieron resultados estadísticamente significativos, de tal modo que el hecho de portar el alelo C tendría efecto de riesgo sobre el desarrollo de la enfermedad ($OR_{CT+CC/TT} = 2,074$ (1,244-3,157) y $OR_{CT+CC/TT} = 6,10$ (2,83-13,14), respectivamente). Por último, en el estudio de PCa llevado a cabo por Kesarwani y su equipo (2009) los resultados muestran valores de riesgo para el alelo C, tanto en el modelo alélico como en el codominante ($OR_{CC/TT} = 2,01$ (1,16-3,42); $OR_{C/T} = 1,61$ (1,24-2,61)). En este trabajo consideran que el alelo C de este SNP favorece la transcripción, lo que lleva a la sobreproducción del TNF- α , lo que a su vez mantendría la inflamación crónica e incrementaría el riesgo de desarrollar PCa.

Por lo tanto, asumiendo que la presencia del alelo C implicaría una mayor producción de TNF- α independientemente del contexto biológico y que generalmente esto implicaría un incremento de la inflamación y del riesgo a desarrollar cáncer, es necesario centrarse en la inmensa variedad de funciones de la citoquina, así como en los múltiples efectos de la inflamación para explicar los matices de los resultados obtenidos. Esta molécula ejerce habitualmente efectos protumorigénicos, pero éstos no son exclusivos, ya que se ha observado que en circunstancias concretas puede ser un factor angiostático y por tanto anti-tumorigénico. De este modo, quizá el genotipo heterocigoto sea el más favorable para el individuo, por permitir un nivel de equilibrio en la cantidad de TNF- α producida. Así, tanto un homocigoto como otro, ya sea por defecto o exceso de producción, podrían tener efectos nocivos para los portadores de estos genotipos, sobre todo en circunstancias específicas como por ejemplo un elevado consumo de tabaco.

4.2.9. XRCC1 - rs25487.

Múltiples factores poseen la capacidad de dañar el ADN hasta el punto de producir mutaciones irreversibles que en muchos casos pueden conducir a la muerte celular. De manera opuesta, en algunos casos esos daños, de no ser reparados, provocarían inestabilidad genética y podrían llevar a desarrollar un proceso carcinogénico. Por ello las células cuentan con varios mecanismos de reparación a distintos niveles, entre los que se encuentra la ruta BER, encargados de mantener el ADN en perfecto estado. Esta ruta elimina daños en una única

cadena, de longitud variable, mediante el corte y réplica de la sección dañada. La proteína XRCC1 actúa como soporte, interactuando con enzimas y mejorando la eficiencia de la reparación. El SNP rs25487 produce un cambio de aminoácido de arginina por glutamina, lo que a su vez produce una variación en la proteína. En la mayoría de estudios realizados se ha concluido que el alelo A (Gln) reduce la eficacia de la proteína XRCC1 en el proceso de reparación de ADN y con ello incrementa el riesgo a desarrollar cáncer.

El análisis general del riesgo a desarrollar PCa vinculado a diversos modelos genéticos muestra resultados estadísticamente no significativos, con valores muy próximos a la neutralidad. Teniendo esto en cuenta, podría interpretarse un ligero incremento del riesgo asociado al genotipo heterocigoto, mientras que ambos homocigotos mostrarían un efecto de protección prácticamente idéntico, ligeramente mayor para el homocigoto AA que para el GG ($OR_{AA/GG} = 1,017$; $p = 0,958$).

En la estratificación tampoco se han obtenido resultados significativos, pero sí OR mayores que los calculados en el análisis general. En cuanto a la edad, se observa un incremento del riesgo, sobre todo a partir de los 70 años, en los individuos con genotipo AG. Por lo tanto, se observa un modelo de asociación sobredominante bastante más evidente que el descrito en el análisis global, aunque sin llegar a ser significativo. En el primer intervalo de edad, en individuos menores de 65 años, se observa diferencia entre ambos homocigotos, ya que el genotipo AA parece tener un efecto de riesgo en estos individuos que no se observa en los varones con genotipo GG. Pero a partir de los 65 años ambos homocigotos parecen pasar a ejercer un efecto idéntico, primero de riesgo y posteriormente, como ya se ha comentado, protector (Tabla 64, Fig. 77).

En la estratificación por consumo tabáquico se observa una tendencia similar de los dos homocigotos, aunque mucho más evidente en el caso del genotipo AA. Así, para consumo tabáquico mayor de 38 *pack-years* los homocigotos (sobre todo el genotipo AA) muestran un carácter protector que se invierte claramente en el grupo de consumo mayor de 38 PY. Como comentábamos anteriormente este cambio de tendencia se observa principalmente en el genotipo AA asociado a un efecto de riesgo que se refleja en un valor de OR cercano a la significación ($OR_{AG/AA} = 0,372$; $p = 0,092$) y en las pautas relacionadas con el genotipo AA observadas en la figura 78. Considerando el vínculo entre el consumo tabáquico y el daño en el ADN y su posterior reparación, especialmente mediante la ruta BER en la que está implicada la proteína XRCC1, parece razonable suponer que habría una asociación de riesgo entre el genotipo AA, que implica menor capacidad para llevar a cabo la función reparadora de XRCC1, y el desarrollo del cáncer en varones con consumo elevado, en los que el efecto del tabaquismo sobre la integridad del ADN se mostraría más claramente (Abdel-Rahman & El-Zein, 2000; Duell *et al.*, 2001).

Los resultados obtenidos en la estratificación por IMC también manifiestan diferencias entre el comportamiento de un genotipo homocigoto y otro. En el caso del homocigoto GG para valores de OR por debajo de 28 se observa una ligera protección no significativa, que tiende a la neutralidad a partir de dicho valor de IMC. En cambio, el efecto del homocigoto AA parece mucho más evidente, con valores de riesgo rozando la significación, en individuos con IMC menor que 28 ($OR_{AG/AA} = 0,380$; $p = 0,079$) y con un efecto protector, a partir de 28, con un OR también cercano a la significación ($OR_{AG/AA} = 2,420$; $p = 0,086$). Este efecto protector del genotipo AA en los individuos con sobrepeso y obesidad ($IMC > 28$) se refleja también en los resultados obtenidos en la figura 79. Por lo tanto, en este caso, se observa una asociación de

tipo recesivo por parte del alelo A, tanto en su efecto de riesgo como protector. Este carácter protector del alelo A (Gln) en individuos con elevado IMC resulta contradictorio si tenemos en cuenta que se ha descrito que la obesidad puede inducir daño en el ADN e inhibir sus mecanismos de reparación (Włodarczyk & Nowicka, 2019).

Este marcador genético molecular está ampliamente estudiado en relación al cáncer. Muchos de los trabajos muestran resultados estadísticamente no significativos, como los obtenidos en estudios de cáncer de páncreas, gástrico, vejiga, tiroides, pulmón, etc. (Duell *et al.*, 2002; Ryu *et al.*, 2011; Saikia, Phukan, Sharma, Sekhon, & Mahanta, 2014; H. Shen *et al.*, 2000; Zhi *et al.*, 2012). Sin embargo, se han encontrado resultados estadísticamente significativos en cáncer colorrectal, nasofaríngeo o mama (Abdel-Rahman *et al.*, 2000; Chacko, Rajan, Joseph, Mathew, & Pillai, 2005; Duell *et al.*, 2001; Q. Li *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2014). Generalmente, tanto los trabajos con resultados estadísticamente significativos como aquellos carentes de significación estadística muestran el alelo A, es decir, el correspondiente al aminoácido Glutamina (Gln), como el de mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad. En ciertos casos el genotipo heterocigoto se muestra como el de mayor riesgo, tal y como se ha obtenido en el trabajo de Pan HZ y colaboradores (2011) en cáncer hepatocelular. En lo que se refiere a la relación entre el rs25487 y el desarrollo de PCa se han realizado algunos análisis con resultados significativos (Ritchey *et al.*, 2005; Z. Xu *et al.*, 2007; J. Zhang, Dhakai, *et al.*, 2010) aunque en la mayoría no se observa esta significación estadística (Agalliu *et al.*, 2010; Hamano *et al.*, 2008; Hirata *et al.*, 2007; Kuasne *et al.*, 2011; Mittal *et al.*, 2012; Rybicki *et al.*, 2004; Sorour *et al.*, 2013; Van Gils *et al.*, 2002). Al igual que sucedía con el resto de tipos de cáncer, en este caso el alelo Gln también se muestra como el de riesgo, excepto en el trabajo de Rybicki *et al.* (2004), en el que este alelo parece mostrar efecto protector no significativo, y en el de Xu *et al.* (2007) en el que el riesgo aparece asociado al genotipo heterocigoto. Por último, se han publicado múltiples análisis de estratificación, siendo especialmente relevantes las que estudian el consumo tabáquico, ya que en ciertos casos se han obtenido resultados significativos que no se detectaban en el análisis de la muestra completa, como sucede con el trabajo de Duell (2002), así como un incremento en valores que ya tenían significación estadística, como en el caso de Abdel-Rahman (2002). De la misma forma, en nuestro trabajo el mayor efecto de riesgo también se ha observado asociado al alelo A, sobre todo en el grupo de alto consumo tabáquico, lo que parece indicar la importancia de este factor en relación al desarrollo del cáncer y el daño y reparación del ADN.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este análisis no parecen contradecir los descritos en la bibliografía ya publicada, sino que confirman lo observado: el alelo Gln se muestra como el de mayor riesgo asociado a desarrollar cáncer debido, probablemente, a que reduce la capacidad de reparación de ADN dañado. Sin embargo, este efecto no se muestra únicamente en homocigosis, sino que también aparece, en ciertos casos, en heterocigosis. La ausencia de significación estadística en muchos trabajos podría deberse quizá a la necesidad de llevar a cabo estudios con mayor tamaño muestral para marcadores con la penetrancia que presenta este SNP, conclusión que parece confirmar el hecho de que se hayan publicado múltiples meta-análisis realizados con este polimorfismo y que varios de ellos muestren resultados estadísticamente significativos, como es el caso de Saadat *et al.* (2009).

4.2.10. ERCC4 - rs744154.

La ERCC4, también llamada XPF, se une a la ERCC1 formando un complejo que participa en diversas rutas de reparación de ADN, como la ruta NER o las rutas de reparación de DSB. Su principal función consiste en llevar a cabo el corte de un extremo de la hebra de ADN dañada. Dada la multitud de procesos de reparación en las que está implicada, esta enzima se considera especialmente relevante en cuanto al desarrollo de enfermedades como el cáncer, así como a la respuesta a tratamientos oncológicos. El cambio nucleotídico rs744154, situado en una región intrónica del *ERCC4*, se ha estudiado en relación al desarrollo de varios tipos de cáncer, entre los que se incluye el gástrico, el de vejiga o el de mama. La región en la que se encuentra este SNP se ha conservado a lo largo de la evolución por lo que se cree que este polimorfismo tendría un importante efecto sobre la expresión de la proteína.

Las frecuencias alélicas observadas en la muestra analizada en este trabajo muestran valores semejantes a los observados en la población española. En ambos casos son frecuencias más bajas que las observadas en las otras poblaciones. Las mayores frecuencias alélicas medias, para el alelo mayoritario G, se encuentran en América y África, seguidas de Asia y Europa.

En el análisis general de la muestra se han obtenido valores cercanos a la significación estadística, concretamente en el modelo sobredominante ($p = 0,052$), en el que se observa el efecto de riesgo de ambos genotipos homocigotos ($OR_{CC+GG/CG} = 1,488$) y por lo tanto el carácter protector del heterocigoto. Al comprobar el modelo codominante se observa que dicho efecto de riesgo se refleja en valores de OR muy semejantes, aunque la significación es bastante mayor para el genotipo GG que para el genotipo CC ($p = 0,067$ y $p = 0,222$, respectivamente). Este resultado contradictorio probablemente es debido al reducido número de individuos con genotipo CC, que implica una disminución en la eficacia estadística del análisis.

Al estratificar la muestra en función de la edad, el genotipo homocigoto CC muestra un incremento de riesgo en el intervalo intermedio (entre 65 y 69 años), mientras que para varones jóvenes su efecto parece neutro y para aquellos con edad superior a los 70 años ejerce un riesgo menor. En cuanto al grupo homocigoto GG la tendencia es similar, aumentando su efecto en el intervalo de edad intermedio, aunque en este caso todos los valores de OR son menores. Por tanto, respecto a la estratificación por edad este polimorfismo parece seguir un modelo de sobredominancia con valores no significativos, aunque ambos homocigotos no siempre ejercen el mismo efecto respecto al heterocigoto.

En cuanto al consumo tabáquico, en individuos no fumadores el genotipo CC manifiesta efecto de riesgo estadísticamente no significativo, mientras que el valor del genotipo GG está muy próximo a la neutralidad. Para consumo tabáquico bajo los OR calculados parecen mostrar efecto de riesgo del heterocigoto, cambiando la tendencia de comportamiento que se había observado hasta el momento. En el grupo de consumo intermedio-alto (entre 18 y 38 PY) se vuelve a la situación de sobredominancia, en la que el genotipo CC presenta un efecto de riesgo significativamente elevado ($OR_{GG/CG} = 8,615$; $p = 0,032$), mientras que el GG mostraría un comportamiento intermedio entre CC y CG ($OR_{GG/CG} = 2,238$; $p = 0,125$). Por último, para varones con consumo de tabaco elevado (más de 38 PY), el genotipo GG pasa a ser el que muestra un efecto de riesgo estadísticamente significativo ($OR_{GG/CG} = 2,812$; $p = 0,009$), mientras que el genotipo CC sería el que, en este caso, mostraría efecto intermedio y ausencia de significación ($OR_{CC/CG} = 1,571$; $p = 0,408$). Por lo tanto, se repite la situación de la estratificación por edad, con un modelo general de sobredominancia y con diferentes efectos de

los dos homocigotos dependiendo del nivel de consumo de tabaco, aunque en este caso se observan valores de OR significativos. Al igual que sucedía en el anterior marcador genético molecular implicado en la reparación de ADN que se ha estudiado en este trabajo, el ERCC4 también muestra especial asociación con un consumo tabáquico moderado o elevado. La implicación del tabaquismo en el daño celular parece estar fuera de toda duda, por lo que el vínculo entre un factor genético implicado en la eficiencia de los procesos de reparación de ADN y un factor nocivo como el tabaquismo parece a su vez algo probable. Así, no es de extrañar que los resultados en los que se relacionan estos dos factores y el desarrollo del PCa sean los más elevados y significativos obtenidos.

En lo que respecta al IMC no se han obtenido resultados estadísticamente significativos. En todos los casos los genotipos homocigotos muestran la misma tendencia de riesgo con respecto al heterocigoto. Sin embargo, en los individuos con normopeso y bajo peso el riesgo observado es muy leve, cercano a la neutralidad, mientras que en los individuos con IMC superior a 28 el riesgo aumenta de manera evidente, aunque, como ya hemos comentado sin llegar a valores significativos.

Los resultados obtenidos en los estudios que han analizado la posible relación entre el desarrollo del cáncer y el rs744154 coinciden en general con los observados en nuestro estudio. Es decir, el genotipo heterocigoto se vincula a un efecto de máxima protección. Sin embargo, estos estudios detectan el máximo riesgo para el homocigoto GG (Chu *et al.*, 2013; Milne *et al.*, 2006) o el genotipo CC (M. Wang *et al.*, 2010), mientras que, en nuestro caso, en el análisis general, ambos homocigotos presentan un riesgo muy similar. De todas maneras, hay que señalar que este efecto diferencial de ambos homocigotos sí que se observa, en diferentes grupos de nuestra muestra, tras realizar los análisis de estratificación en función de la edad y el consumo tabáquico. Aunque en estos trabajos se han obtenidos resultados de asociación significativa, también hay estudios que han obtenido resultados no significativos (Gaudet *et al.*, 2009; J.-S. Zhang *et al.*, 2013). En la mayoría de los trabajos publicados se ha realizado análisis en función del consumo tabáquico, además del estudio general de la muestra analizada. En este caso en general los resultados obtenidos indican que a medida que aumenta el consumo tabáquico se reduce la protección vinculada al heterocigoto (Chu *et al.*, 2013; M. Wang *et al.*, 2010), a diferencia de lo que observamos en nuestro análisis. En este sentido, hay que señalar que ninguno de estos trabajos está relacionado con el cáncer de próstata. Se han publicado estudios que vinculan el ERCC4 con el desarrollo de PCa, así como con su tratamiento, pero no se han encontrado en la bibliografía estudios de caso-control comparables al nuestro. Por lo tanto, tal y como sucedía en los análisis realizados con el XRCC1, los resultados obtenidos en todos estos trabajos, incluido el nuestro, parecen evidenciar que este marcador genético molecular presenta cierta asociación con el desarrollo de diversos tipos de cáncer, influida a su vez por la cantidad de tabaco consumido.

4.2.11. COMBINACIONES GENOTÍPICAS DE LOS MARCADORES INFLAMATORIOS.

Teniendo en cuenta la relativamente estrecha relación entre las citoquinas estudiadas en este trabajo, así como la ausencia de desequilibrio de ligamiento, se ha llevado a cabo un análisis del posible riesgo conjunto de estos marcadores genéticos mediante combinaciones genotípicas pareadas.

Los resultados obtenidos en el análisis general de cada marcador mostraban un efecto generalmente de baja magnitud, ya que únicamente en la IL-6 se observan valores de asociación estadísticamente significativos. El bajo impacto general del efecto podría hacer necesario un tamaño muestral muy elevado para ser detectado estadísticamente. Sin embargo, al combinarse los efectos de dos marcadores éstos pueden reforzarse y así permitir que los análisis estadísticos puedan detectar dichos efectos.

Para la mayoría de los marcadores, los genotipos que se han definido como de riesgo y protección en el análisis individual coinciden con los resultados observados en los análisis de marcadores combinados por parejas. Sin embargo, también se han dado algunos casos en los que al realizar el análisis combinado se han observado cambios en los genotipos de riesgo y protección respecto a los obtenidos en el análisis individual. Hay que tener en cuenta, al considerar estos cambios, que el efecto de riesgo y protección de los análisis individuales se deducía, en la mayoría de las ocasiones, a partir de valores de OR no significativos.

Así, en la mayoría de los casos, en los análisis combinados se refuerza el carácter de riesgo o protección de los genotipos observados en el análisis individual. Esto da más consistencia a las tendencias de asociación no significativas que se observan en estos análisis individuales, pero teniendo en cuenta la falta de significación no es de extrañar que en ciertos casos no se produzca esta coincidencia.

Como se detalla en la tabla 68, hasta 49 de estas combinaciones genotípicas muestran valores de asociación significativos con el desarrollo de PCa. En general, los valores de probabilidad de estas 49 combinaciones son muy similares, oscilando entre 0,049 y 0,005, aunque la mayoría se sitúan entre 0,03 y 0,04. Únicamente destacan por un valor de significación relativamente mayor combinaciones como IL-1 + IL-6 AG-CG/AG-CC ($p = 0,005$), la IL6 + IL-10 GG-CC/GG-CT ($p = 0,008$) e IL-6 + TNF- α CG-TT/CC-CT ($p = 0,010$). Es de destacar que en estas combinaciones de elevada significación aparecen la IL-10 y, sobre todo, la IL6, que como ya hemos comentado anteriormente, son citoquinas que presentan una gran cantidad de interacciones en diversas rutas inflamatorias. Este elevado número de combinaciones genotípicas que presentan valores de asociación significativos refuerzan la idea de que efectos de baja magnitud de diferentes marcadores individuales pueden producir un efecto combinado mucho más intenso.

En la revisión bibliográfica realizada para este apartado del análisis no se encontraron estudios comparables a este, ya que en ningún caso se realizaban combinaciones genotípicas utilizando más de uno de los SNPs analizados en este trabajo. En múltiples casos se encontraron análisis con haplotipos, los cuales se llevan a cabo a partir de frecuencias alélicas y no de las frecuencias genotípicas absolutas, como es nuestro caso, por lo que los resultados no son comparables. Por otra parte, tanto los haplotipos como otras combinaciones genotípicas realizadas en dichos estudios, utilizaban combinaciones de marcadores genéticos presentes en el mismo gen, condición que no se cumple en ninguno de los polimorfismos presentes en esta tesis.

4.3. Discusión general.

Antes de llevar a cabo el análisis de asociación entre el componente genético y el desarrollo de enfermedades, en este tipo de estudios tipo caso-control debe realizarse un análisis descriptivo de la distribución alélica de la muestra. Para ello se ha hecho un análisis comparativo de las frecuencias alélicas de cada uno de los marcadores estudiados. Los resultados obtenidos mediante el cálculo del estadístico t_s permiten concluir que en ningún caso existen diferencias significativas entre el grupo de casos y el de controles. Por lo tanto, este resultado no proporciona evidencias de asociación entre los alelos de los marcadores analizados y el desarrollo del cáncer de próstata. Las frecuencias alélicas de la muestra, tanto en casos como en controles, es similar en todos los marcadores a las españolas y, por extensión, las europeas. Por lo tanto, esta muestra se considera representativa del contexto europeo y, en consecuencia, los resultados obtenidos podrían ser extrapolables a las poblaciones originarias de esta zona. En cuanto al equilibrio Hardy-Weinberg, los resultados obtenidos indican que no se pueden asumir desviaciones en los marcadores analizados. Este análisis se ha llevado a cabo en el grupo de los controles, por ser el conjunto de la muestra que representaría más fielmente a la población estudiada. Por todo ello, la población analizada en esta tesis cumpliría de manera general los supuestos que implica el estado de equilibrio genético. Es decir, ausencia de estructura poblacional apreciable, tamaño poblacional relativamente elevado y ausencia de procesos migratorios recientes importantes. Por otra parte, estos resultados también parecen evidenciar que ninguno de los *loci* analizados presenta carácter adaptativo, es decir, no están influidos por la selección natural.

Todos los resultados obtenidos en este primer análisis posibilitan la realización de los objetivos principales de este trabajo, ya que la existencia de alguno de estos factores (estructura poblacional, tamaño poblacional reducido, procesos migratorios e influencia de la selección natural) podría influir en las frecuencias genotípicas y, de ese modo, interferir en la interpretación de los resultados de los análisis de asociación entre las frecuencias genotípicas y la aparición del cáncer de próstata.

Para la interpretación de los resultados de estos análisis de asociación debemos tener en cuenta que la mayoría de los cambios nucleotídicos analizados se localizan en la región promotora o reguladora de los diferentes genes, por lo que dichos cambios se traducirían en la expresión diferencial del gen y eso a su vez afectaría a sus acciones, en este caso sobre el desarrollo de PCa.

Una de las variables clínicas más utilizada es la concentración de PSA en sangre, cuyo nivel se cuantifica para determinar la necesidad de otras pruebas de diagnóstico de PCa. Por su elevada relevancia clínica se ha analizado la posible asociación de esta medida con el desarrollo de PCa y los marcadores genéticos inflamatorios de esta tesis. Los resultados obtenidos muestran un vínculo significativo entre el cáncer de próstata y el nivel de PSA, con valores mucho más elevados en el grupo de casos que en el de controles. Por otra parte, en el análisis entre el antígeno prostático específico y los marcadores analizados los resultados no son significativos, pero sí se ha observado cierta tendencia, lo que indica que la relación entre estos factores puede no ser directa pero sí existir.

En la mayoría de los casos en el análisis general no se obtuvo significación estadística en la asociación entre genotipo y desarrollo de la enfermedad. Únicamente la IL-6 mostró resultados significativos según el modelo dominante/recesivo y el codominante. Estos resultados asociaban el genotipo heterocigoto CG con mayor riesgo a desarrollar la enfermedad, cuando en trabajos previos se ha descrito un efecto de riesgo de ambos alelos en relación al desarrollo de diversos tipos de cáncer. Concretamente en PCa el alelo G se suele asociar a un mayor riesgo (Abbasabad *et al.*, 2018; Jureceková *et al.*, 2018; Mandal *et al.*, 2014) y, en nuestro caso, aunque el máximo riesgo se asocia con el heterocigoto, entre los homocigotos GG presenta mayor efecto de riesgo que CC.

Por lo tanto, generalmente la asociación a nivel general, ya sea de riesgo o protección, es muy leve y podría ser necesario un número mayor de individuos para detectar un nivel de asociación significativo. Además, teniendo en cuenta la ausencia de significación, los resultados del análisis general deben ser asumidos con precaución, ya que pueden ser equívocos debido a la posible interacción entre el genotipo, la patología y alguna variable no genética como la edad, el tabaquismo o el índice de masa corporal. Todo ello lleva a concluir que es necesario reinterpretar los resultados del análisis general a la luz de los resultados obtenidos en los análisis que tienen en cuenta otras variables no genéticas.

Dichos análisis se llevaron a cabo dividiendo la muestra estudiada en función de tres variables: la edad, el consumo tabáquico y el índice de masa corporal. En cuanto al análisis de asociación de marcadores genéticos y desarrollo de PCa en relación con dichas variables, en primer lugar, se ha llevado a cabo el cálculo de los OR ajustados, que permiten, precisamente, ajustar el valor de los OR del análisis general en función de variables que podrían afectar a la relación entre genotipo y enfermedad. En caso de que los resultados obtenidos en el análisis general, ajustando los OR y sin ajustarlos, fueran muy diferentes, estas variables de ajuste serían confusoras, es decir, afectarían independientemente al genotipo y al cáncer, sin ser un factor intermedio entre el efecto de ambos. En resumen, las asociaciones detectadas en este caso no implicarían una relación directa entre genotipo y enfermedad, sino que las dos variables relacionadas serían el genotipo y la variable confusora. En este trabajo los resultados obtenidos en los OR ajustados son muy similares a los OR sin ajustar, por lo que estos resultados ajustados no se incluyen en este manuscrito. Esto nos permite concluir que las variables edad, consumo tabáquico e IMC son, al menos en esta muestra, variables modificadoras y por lo tanto se justifica la realización de un análisis estratificado. En dicho análisis se ha obtenido una heterogeneidad considerable en los distintos estratos, lo cual refuerza el carácter modificador de estas variables.

El modelo genético utilizado para la realización del análisis estratificado fue el codominante, porque tal y como se ha comentado previamente, es el más informativo en cuanto a la visualización del efecto o comportamiento de cada uno de los marcadores genéticos. En ciertos casos se han considerado útiles otros modelos, generalmente el sobredominante, y se han añadido a los resultados. Una de las características observadas en muchos marcadores genético moleculares analizados es que no se mantiene el modelo genético observado entre el análisis general y los estratificados. De hecho, en varios casos el modelo varía tanto entre una variable y otra como dentro de una única variable. Como ya se ha comentado anteriormente, los resultados no significativos obtenidos en la mayoría de los análisis generales deben ser considerados con precaución. Por lo tanto, no es de extrañar que modelos genéticos definidos en función de OR no significativos cambien cuando entran en juego en los análisis variables de estratificación, que pueden estar implicadas en el efecto de riesgo/protección de los diferentes

genotipos o alelos. En cuanto a la variación observada en la estratificación en función de diferentes variables, especialmente considerando únicamente los valores significativos, ésta puede deberse a distintos factores como la pleiotropía de varios marcadores o la variabilidad de los efectos de estas moléculas dependiendo del ambiente celular o de las particularidades de las propias variables.

El análisis estratificado llevado a cabo en este trabajo no se ha comparado de forma pormenorizada con ningún otro publicado anteriormente debido a la elevada variedad de criterios de estratificación utilizados en la literatura científica. Se han publicado una gran cantidad de estudios en los que se analiza el efecto de la edad, del tabaquismo y del IMC, entre otras variables. Sin embargo, estos trabajos consideraban intervalos o niveles de estratificación muy heterogéneos y habitualmente diferentes a los realizados en este trabajo, lo que hace prácticamente imposible considerar una comparación directa. Por otra parte, durante el desarrollo de esta tesis se han llevado a cabo análisis con múltiples intervalos, buscando tendencias en los patrones de asociación para finalmente incluir en el manuscrito aquéllos que mostraban más claramente dichas tendencias. Por otra parte, la propia distribución de los marcadores provoca que ciertas divisiones de la muestra no sean adecuadas, ya que el tamaño muestral de los diferentes grupos es un factor determinante en este tipo de análisis.

Independientemente de la significación estadística los resultados obtenidos en los análisis de estratificación en función de la edad indican que el intervalo en el que los genotipos tienen un mayor efecto sobre el riesgo se encontraría entre 67 y 70 años. Sin embargo, esto no se mantiene en todos los marcadores. Únicamente en los polimorfismos de la IL-18, la IL-6, la IL-10 y el MIF se han obtenido OR estadísticamente significativos para esta variable. Y en todos estos marcadores, excepto el MIF, se han obtenido valores significativos de asociación a partir de los 65 años.

En lo que se refiere al análisis estadístico del tabaquismo se han obtenido resultados significativos en IL-18, IL-6, IL-17A, TNF- α y ERCC4 (XPF). Para esta variable el efecto asociado a cada uno de los genotipos sufre importantes variaciones, de tal modo que los resultados obtenidos son considerablemente heterogéneos. De todas maneras, a menudo es en valores de consumo intermedio en los que se observa una mayor magnitud del efecto de los genotipos. Como ya hemos comentado, esta observación parece indicar que el efecto de los polimorfismos puede estar relacionado con el consumo tabáquico, aunque cuando éste es muy elevado se diluye dicho efecto. Esta relación puede explicarse teniendo en cuenta las funciones que las moléculas estudiadas ejercen en los mecanismos de inflamación y de reparación del ADN, y el efecto que a su vez tiene el consumo de tabaco sobre el daño celular y la inflamación.

Por último, en el análisis del IMC se han obtenido relativamente pocos OR estadísticamente significativos, solo en IL-6, MIF y TNF- α . El punto más relevante en esta variable se da en valores entre 27 y 28, que es donde se han observado los principales cambios de tendencia en el comportamiento de los marcadores respecto al desarrollo de PCa. La distribución de la población analizada en esta variable no ha permitido realizar los análisis utilizando únicamente los parámetros establecidos por la OMS, ya que hay una ausencia casi total de individuos de bajo peso, por lo que se han llevado a cabo agrupaciones en las que los dos valores ya citados suelen ser el punto de corte, cuando el límite entre sobrepeso y normopeso según la OMS es 25. En este caso la relación entre IMC, PCa y los polimorfismos analizados puede tener su raíz en los procesos inflamatorios relacionados con estados de sobrepeso y obesidad. Además, el

tejido adiposo produce sus propias citoquinas (adipoquinas), cuyos efectos pueden interaccionar con los de las moléculas analizadas en este trabajo.

En al menos cinco marcadores se han observado pautas de comportamiento que siguen un modelo genético de sobredominancia tanto en el análisis general como en el estratificado. Además, en los casos en los que no se observa sobredominancia en el análisis general, al llevar a cabo la estratificación, en algunos casos también se han observado resultados de asociación que siguen dicho modelo. Esto podría deberse a que las moléculas estudiadas llevan a cabo funciones muy complejas y heterogéneas, por lo que niveles intermedios de expresión pueden dar lugar a una compensación de las acciones y efectos aparentemente contradictorios de las proteínas analizadas. Es decir, la elevada presencia de un modelo genético sobredominante parece indicar que el genotipo heterocigoto, en marcadores genéticos implicados en múltiples rutas y funciones, tiene un efecto opuesto al de los homocigotos. Dichos homocigotos en algunos casos presentan un efecto similar, mientras que otras veces uno de ellos muestra un efecto intermedio.

Es indiscutible, al observar conjuntamente todos los análisis realizados, que la estratificación de la muestra, pese a la reducción del tamaño muestral implícita, permite detectar fenómenos de asociación que no se detectaban en el análisis general. Determinados subgrupos de población clasificados en función de las tres variables estudiadas muestran un importante incremento del efecto de los diferentes genotipos sobre el desarrollo del cáncer, aumentando también los valores de significación asociados. Por todo ello, de los resultados obtenidos tanto en este análisis como en trabajos previos, se deriva la necesidad de llevar a cabo estudios con tamaños muestrales elevados, que permitan realizar un análisis estratificado más pormenorizado y más potente estadísticamente, para así poder tener una visión más clara del comportamiento de los marcadores respecto al desarrollo de PCa y de su interacción con otras variables.

El objetivo del análisis combinado de marcadores genético moleculares era comprobar si al combinar los genotipos de dos marcadores se observaba un incremento en el efecto sobre el desarrollo de PCa. Para la realización de este tipo de análisis también es importante disponer de un tamaño muestral relativamente elevado. Como ya se ha visto, el efecto global de cada marcador analizado individualmente en relación al desarrollo de PCa parece bastante leve. Sin embargo, la combinación con otros factores de riesgo genético, es decir, con otros marcadores, potencia de manera evidente este efecto, tal y como se observa en los resultados obtenidos en el análisis de marcadores combinados por parejas. Por lo tanto, el hecho de combinar factores de riesgo, ya sean marcadores genéticos o variables no genéticas como el consumo tabáquico, puede desvelar efectos importantes de dichos marcadores en grupos concretos de la muestra.

En definitiva, el objetivo final de este tipo de trabajos es la búsqueda de marcadores genéticos que puedan ser utilizados para evaluar el riesgo de un individuo concreto a desarrollar una patología, en este caso PCa, y tomar las medidas preventivas oportunas. A falta del descubrimiento de uno o varios marcadores que presenten una estrecha relación con el origen del cáncer de próstata, los resultados obtenidos en este trabajo sugieren la posibilidad de una estrategia alternativa consistente en la realización de un perfil genético multi-*loci* y su integración con información relacionada con otros factores de riesgo no genéticos.





5. CONCLUSIONES.



1. Para ninguno de los marcadores genético moleculares analizados se ha detectado desequilibrio Hardy-Weinberg ni diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de casos y controles. Las frecuencias alélicas observadas para cada uno de los marcadores estudiados son muy similares a las observadas en otras poblaciones de origen europeo. Por lo tanto, podemos concluir que nuestra muestra es representativa de poblaciones de origen europeo y presenta características adecuadas para poder ser utilizada en un estudio de asociación de tipo caso-control.
2. En el análisis de asociación del PSA se encontraron diferencias significativas entre la distribución de casos y controles. Sin embargo, no se observó asociación significativa entre esta variable y los marcadores genético moleculares analizados.
3. El alelo de la delección del rs3783553 de la IL-1 α manifiesta una tendencia no significativa a incrementar el riesgo a desarrollar PCa en el análisis general de la muestra. En el análisis de la estratificación no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos, pero sí patrones de riesgo/protección con valores máximos en edad intermedia, consumo tabáquico bajo e IMC por encima de 28.
4. En el rs16944 de la IL-1 β no se observa significación estadística en el análisis general ni en la estratificación. Sin embargo, sí se observan patrones de tendencia heterogéneos, especialmente en las variables de estratificación. En el análisis general este marcador sigue un modelo genético codominante con AA como genotipo de riesgo.
5. Las tendencias de asociación no significativa observadas en el análisis general del rs187238 de la IL-18 muestran efecto de riesgo para los genotipos CC y CG según un modelo dominante/recesivo. En el análisis estratificado el genotipo CC se asocia significativamente con un mayor riesgo a desarrollar PCa a partir de 68 años, mientras que a partir de 30 *pack-years* los genotipos CC y CG muestran efecto protector estadísticamente significativo.
6. El rs1800795 de la IL-6 es el único marcador en el que se observan resultados estadísticamente significativos en el análisis general. Dichos resultados muestran efecto de riesgo para el genotipo heterocigoto según el modelo genético sobredominante. Dicho modelo se mantiene en las tres variables de estratificación, con resultados estadísticamente significativos para valores intermedios de todas ellas y siempre con riesgo asociado al genotipo heterocigoto.
7. El genotipo GG del rs1800896 de la IL-10 parece mostrar efecto de riesgo frente al desarrollo de PCa en el análisis general siguiendo un modelo de dominancia/recesividad. En el análisis estratificado se observan valores significativos en el grupo de individuos a partir de 65 años, con riesgo asociado al genotipo GG.

8. La IL-17A (rs2275913) muestra un modelo genético de sobredominancia con efecto protector asociado al genotipo heterocigoto, pero con valores no significativos en el análisis general. El análisis estratificado muestra efecto significativo únicamente en la variable de tabaquismo, con valores de riesgo asociados al homocigoto GG para consumo intermedio.
9. En el rs2070767 del MIF tampoco se observan valores significativos en el análisis general pero sí una tendencia asociada al alelo de riesgo C. En el análisis estratificado se observan cambios de tendencia en los modelos genéticos, con resultados de efecto de riesgo estadísticamente significativos para edades bajas, asociados al genotipo heterocigoto, y para IMC entre 27 y 31 asociados al alelo C.
10. La tendencia de asociación observada en el análisis general del rs1799964 del TNF- α muestra efecto de riesgo no significativo, asociado a los dos genotipos homocigotos. Este modelo de sobredominancia se mantiene en valores de IMC por debajo de 28 y en consumo elevado de tabaco, en los que el genotipo TT manifiesta un incremento significativo del riesgo de desarrollar PCa.
11. Ambos genotipos homocigotos del rs25487 del XRCC1 muestran efecto de riesgo no significativo en el análisis general, siguiendo un modelo sobredominante. De la misma forma no se observan OR estadísticamente significativos para ninguna de las tres variables de estratificación, pero sí patrones de riesgo especialmente elevados para edad alta, tabaquismo entre 20-38 *pack-years* e IMC menor de 28.
12. El último marcador analizado, ERCC4 (rs744154), también muestra patrones de riesgo no significativos asociados a los genotipos homocigotos. En el análisis estratificado se observan resultados estadísticamente significativos en el análisis del tabaquismo. Para valores de consumo intermedio el genotipo CC muestra efecto de riesgo mientras que para consumo elevado el riesgo significativo pasa a estar asociado al genotipo GG.
13. Por lo tanto, no se observan valores estadísticamente significativos al realizar el análisis general de la muestra con la única excepción de la IL-6, en la que se observa significación estadística en este análisis, así como en la estratificación. Pese a la ausencia de significación estadística los OR calculados permiten realizar un primer esbozo del comportamiento de los marcadores analizados en relación al desarrollo del PCa.
14. Los resultados del análisis estratificado desvelan una relación mucho más evidente entre los genotipos de los diferentes marcadores analizados y el riesgo a desarrollar PCa, ya que los valores de significación obtenidos son claramente mayores que en el análisis general. La variable con mayor impacto sobre la asociación genotipo/PCa es el tabaquismo, generalmente para valores de consumo intermedios y altos. En menor medida, se observa un mayor efecto de los genotipos en grupos de individuos de edad elevada y un cambio en las tendencias de asociación a partir de valores de IMC que se corresponden con la media de la población.

15. Por lo tanto, podemos concluir que polimorfismos con un efecto leve o indetectable en la población general pueden presentar un impacto notable en grupos concretos de dicha población, cuando se incluye en el análisis la interacción con otras variables que pueden afectar al ambiente celular de los diferentes tejidos del organismo.
16. Los resultados obtenidos en el análisis combinado de los marcadores genéticos inflamatorios desvelan efectos que no se observaban en los análisis anteriores. Así, se han obtenido valores de significación estadística elevados que refuerzan un resultado de asociación entre los polimorfismos de genes implicados en procesos inflamatorios y el desarrollo de PCa.
17. Tanto los resultados del análisis combinado como los del estratificado, ambos con resultados estadísticamente significativos en marcadores que no mostraban significación en el análisis general, confirman la necesidad de tener en cuenta los factores no genéticos cuando se trata de estudiar la relación entre el desarrollo del cáncer y polimorfismos genéticos. Así, tanto la interacción gen-gen como la interacción entre ambiente y gen, considerando ambiente como todos aquellos factores no genéticos, parece jugar un papel muy destacado en el desarrollo de los procesos cancerígenos, tal y como cabía suponer habida cuenta de la complejidad de los procesos implicados en el desarrollo de esta patología.
18. Dada la localización de los polimorfismos analizados, en su mayoría en regiones promotoras, lo más probable es que las asociaciones detectadas estén relacionadas con los efectos sobre la expresión genética de los diferentes genotipos.
19. En resumen, en este trabajo se han observado tendencias de asociación en los efectos de diez marcadores genético moleculares, implicados en los procesos de inflamación y reparación del ADN, respecto al desarrollo de PCa. Dichas tendencias se han confirmado, en ciertos casos, después de la realización de análisis estratificados y combinados, que nos han permitido detectar grupos de individuos en los que el impacto del efecto genético es considerablemente mayor que en la población general.





6. REFERENCIAS.



- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2007). *Cellular and molecular immunology* (6th ed.). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Abbasabad, G. D., Khojasteh, S. M. B., Naji, H. E., Zamani, M. R., Hajipour, H., & Serati-Nouri, H. (2018). An interleukin-6 single nucleotide polymorphism and susceptibility to prostate adenocarcinoma and bone metastasis in an Iranian population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 19(6), 1717–1720. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.6.1717>
- Abdel-Rahman, S. Z., & El-Zein, R. A. (2000). The 399Gln polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK. *Cancer Letters*, 159(1), 63–71. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00532-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00532-2)
- Abdel-Rahman, S. Z., Soliman, A. S., Bondy, M. L., Omar, S., El-Badawy, S. A., Khaled, H. M., ... Levin, B. (2000). Inheritance of the 194Trp and the 399Gln variant alleles of the DNA repair gene XRCC1 are associated with increased risk of early-onset colorectal carcinoma in Egypt. *Cancer Letters*, 159(1), 79–86. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00537-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00537-1)
- Abdolahi, F., Dabbaghmanesh, M. H., Haghshenas, M. R., Ghaderi, A., & Erfani, N. (2015). A gene-disease association study of IL18 in thyroid cancer: genotype and haplotype analyses. *Endocrine*, 50, 698–707. <https://doi.org/10.1007/s12020-015-0623-9>
- Abulí, A., Fernández-Rozadilla, C., Alonso-Espinaco, V., Muñoz, J., Gonzalo, V., Bessa, X., ... Castellví-Bel, S. (2011). Case-control study for colorectal cancer genetic susceptibility in EPICOLON: previously identified variants and mucins. *BMC Cancer*, 11(1), 339. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-339>
- Acuner-Ozbabacan, E. S., Engin, B. H., Guven-Maiorov, E., Kuzu, G., Muratcioglu, S., Baspinar, A., ... Nussinov, R. (2014). The structural network of Interleukin-10 and its implications in inflammation and cancer. *BMC Genomics*, 15(4), S2. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-S4-S2>
- Agalliu, I., Kwon, E. M., Salinas, C. A., Koopmeiners, J. S., Ostrander, E. A., & Stanford, J. L. (2010). Genetic variation in DNA repair genes and prostate cancer risk: Results from a population-based study. *Cancer Causes and Control*, 21(2), 289–300. <https://doi.org/10.1007/s10552-009-9461-5>
- Ahirwar, D., Kesarwani, P., Manchanda, P. K., Mandhani, A., & Mittal, R. D. (2008). Anti- and proinflammatory cytokine gene polymorphism and genetic predisposition: association with smoking, tumor stage and grade, and bacillus Calmette-Guérin immunotherapy in bladder cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 184(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2008.02.015>
- Alberts, B., Wilson, J., & Hunt, T. (2016). *Biología molecular de la célula*. (6th ed.). Barcelona: Omega DL.

- Alexandrakis, M., Passam, F., Sfiridaki, K., Moschandrea, J., Pappa, C., Liapi, D., ... Kyriakou, D. (2004). Interleukin-18 in multiple myeloma patients: Serum levels in relation to response to treatment and survival. *Leukemia Research*, 28(3), 259–266. [https://doi.org/10.1016/S0145-2126\(03\)00261-3](https://doi.org/10.1016/S0145-2126(03)00261-3)
- Altman, D. G. (1991). *Practical statistics for medical research*. London: Chapman and Hall/CRC.
- Álvarez, A. (2005). Anatomía y fisiología de la próstata. In Editorial Universidad de Antioquía (Ed.), *Cirugía Urología* (1th ed., p. 275). Antioquía.
- Amador, M. A., Cavalcante, G. C., Santos, N. P., Gusmão, L., Guerreiro, J. F., Ribeiro-dos-Santos, Â., & Santos, S. (2016). Distribution of allelic and genotypic frequencies of IL1A, IL4, NFKB1 and PAR1 variants in Native American, African, European and Brazilian populations. *BMC Research Notes*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-1906-9>
- American Cancer Society. (2019). American Cancer Society - Information and Resources about for Cancer: Breast, Colon, Lung, Prostate, Skin. Retrieved September 19, 2019, from <http://www.cancer.org/>
- American Joint Committee on Cancer. (2019). Cancer Staging Manual. Retrieved September 21, 2019, from <https://cancerstaging.org/references-tools/desktopreferences/pages/default.aspx>
- American Society of Clinical Oncology. (2019). Cancer.Net - Oncologist-approved cancer information from the American Society of Clinical Oncology. Retrieved September 19, 2019, from <https://www.cancer.net/>
- Amin, M. A., Mansfield, P. J., Pakozdi, A., Campbell, P. L., Ahmed, S., Martinez, R. J., & Koch, A. E. (2007). Interleukin-18 induces angiogenic factors in rheumatoid arthritis synovial tissue fibroblasts via distinct signaling pathways. *Arthritis and Rheumatism*, 56(6), 1787–1797. <https://doi.org/10.1002/art.22705>
- Andrie, E., Michos, A., Kalampoki, V., Pourtsidis, A., Moschovi, M., Polychronopoulou, S., ... Petridou, E. T. (2009). Genetic variants in immunoregulatory genes and risk for childhood lymphomas. *European Journal of Haematology*, 83(4), 334–342. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2009.01288.x>
- Araújo, S. J., & Wood, R. D. (1999). Protein complexes in nucleotide excision repair. *Mutation Research - DNA Repair*, 435(1), 23–33. [https://doi.org/10.1016/S0921-8777\(99\)00042-7](https://doi.org/10.1016/S0921-8777(99)00042-7)
- Arisawa, T., Tahara, T., Shiroeda, H., Matsue, Y., Minato, T., Nomura, T., ... Shibata, T. (2012). Genetic polymorphisms of IL17A and pri-microRNA-938, targeting IL17A 3'-UTR, influence susceptibility to gastric cancer. *Human Immunology*, 73(7), 747–752. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2012.04.011>
- Asociación Española Contra el Cáncer: AECC. (2019). Retrieved September 18, 2019, from <https://www.aecc.es/es>

- Association, A. U. (2003). Urology Care Foundation. Retrieved September 17, 2019, from <https://www.urologyhealth.org/>
- Attia, J., Thakkestian, A., & D'Este, C. (2003). Meta-analyses of molecular association studies: Methodologic lessons for genetic epidemiology. *Journal of Clinical Epidemiology*, 56(4), 297–303. [https://doi.org/10.1016/S0895-4356\(03\)00011-8](https://doi.org/10.1016/S0895-4356(03)00011-8)
- Ayala, F. J., & Kiger, J. A. (1984). *Modern genetics*. (Benjamin Cummings, Ed.) (2nd ed.). Menlo Park, California.
- Azevedo, A., Cunha, V., Teixeira, A. L., & Medeiros, R. (2011). IL-6/IL-6R as a potential key signaling pathway in prostate cancer development. *World Journal of Clinical Oncology*, 2(12), 384–396. <https://doi.org/10.5306/wjco.v2.i12.384>
- Babu, S. N., Chetal, G., & Kumar, S. (2012). Macrophage migration inhibitory factor: A potential marker for cancer diagnosis and therapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(5), 1737–1744. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.5.1737>
- Bach, J.-P., Deuster, O., Balzer-Geldsetzer, M., Meyer, B., Dodel, R., & Bacher, M. (2009). The role of macrophage inhibitory factor in tumorigenesis and central nervous system tumors. *Cancer*, 115(10), 2031–2040. <https://doi.org/10.1002/cncr.24245>
- Back, Lk., Farias, T., da Cunha, P., Muniz, Y., Ribeiro, M., Fernandes, B., ... de Souza, I. (2014). Functional polymorphisms of interleukin-18 gene and risk of breast cancer in a Brazilian population. *Tissue Antigens*, 84(2), 229–233. <https://doi.org/10.1111/tan.12367>
- Balk, S. P., Ko, Y.-J., & Bubley, G. J. (2003). Biology of prostate-specific antigen. *Journal of Clinical Oncology*, 21(2), 383–391. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.02.083>
- Barbulescu, K., Becker, C., Schlaak, J. F., Schmitt, E., Meyer zum Büschenfelde, K.-H., & Neurath, M. F. (1998). IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN-gamma promoter in primary CD4+ T lymphocytes. *The Journal of Immunology*, 160(8), 3642–3647.
- Belfer, I., Buzas, B., Hipp, H., Dean, M., Evans, C., Lorincz, I., ... Goldman, D. (2004). Haplotype structure of inflammatory cytokines genes (IL1B, IL6 and TNF/LTA) in US Caucasians and African Americans. *Genes and Immunity*, 5(6), 505–512. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364118>
- Benedetti-Padrón, I., & Reyes, N. (2014). Atrofia Inflamatoria Proliferativa: Potencial lesión precursora de adenocarcinoma prostático. *Revista Ciencias Biomédicas*, 5(1), 88–99.
- Benito-Jiménez, C., & Espino-Nuño, F. J. (2012). *Genética: conceptos esenciales*. Madrid: Médica Panamericana DL.
- Bensi, G., Raugei, G., Palla, E., Carinci, V., Buonamassa, D. T., & Melli, M. (1987). Human interleukin-1 beta gene. *Gene*, 52(1), 95–101. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(87\)90398-2](https://doi.org/10.1016/0378-1119(87)90398-2)

- Biológicas, I. de C., & Vieira, P. C. M. (2010). Identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nos genes de reparo XRCC1 e XRCC3 como possíveis marcadores de suscetibilidade ao câncer, na população de Belém-Pa.
- Books, E. S. (2015). *Eurostat regional yearbook 2015*. Luxembourg: Publications Office of the European Union. <https://doi.org/10.2785/408702>
- Bostwick, D. G., Burke, H. B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S. M., Landolph, J., ... Timms, B. (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101(10 SUPPL.), 2371–2490. <https://doi.org/10.1002/cncr.20408>
- Braicu, E. I., Mustea, A., Toliat, M. R., Pirvulescu, C., Könsgen, D., Sun, P., ... Sehouli, J. (2007). Polymorphism of IL-1 α , IL-1 β and IL-10 in patients with advanced ovarian cancer: Results of a prospective study with 147 patients. *Gynecologic Oncology*, 104(3), 680–685. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.10.014>
- Brem, R., & Hall, J. (2005). XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells. *Nucleic Acids Research*, 33(8), 2512–2520. <https://doi.org/10.1093/nar/gki543>
- Bukan, N., Sözen, S., Coskun, U., Sancak, B., Günel, N., Bozkirli, I., & Senocak, Ç. (2003). Serum interleukin-18 and nitric oxide activity in bladder carcinoma. *European Cytokine Network*, 14(3), 163–167.
- Bushley, A. W., Ferrell, R., McDuffie, K., Terada, K. Y., Carney, M. E., Thompson, P. J., ... Goodman, M. T. (2004). Polymorphisms of interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, and IL-18 and the risk of ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 95(3), 672–679. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2004.08.024>
- Čačev, T., Jokić, M., Lončar, B., Križanac, Š., & Kapitanović, S. (2010). Interleukin-6-174 G/C polymorphism is not associated with IL-6 expression and susceptibility to sporadic colon cancer. *DNA and Cell Biology*, 29(4), 177–182. <https://doi.org/10.1089/dna.2009.0950>
- Caldecott, K. (2003). Protein-protein interactions during mammalian DNA single-strand break repair. *Biochemical Society Transactions*, 31(1), 247–251. <https://doi.org/10.1042/bst0310247>
- Calderón, R., Lodeiro, R., Varela, T. A., Fariña, J., Ambrosio, B., Guitard, E., ... Dugoujon, J. M. (2007). GM and KM immunoglobulin allotypes in the Galician population: new insights into the peopling of the Iberian Peninsula. *BMC Genetics*, 8(1), 37. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-8-37>
- Campa, D., Hung, R. J., Mates, D., Zaridze, D., Szeszenia-Dabrowska, N., Rudnai, P., ... Canzian, F. (2005). Lack of association between polymorphisms in inflammatory genes and lung cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 14(2), 538–539. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0513>

- Campa, D., Zienolddiny, S., Maggini, V., Skaug, V., Haugen, A., & Canzian, F. (2004). Association of a common polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene with risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 25(2), 229–235. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh008>
- Casas-Vargas, L. A., & Gómez-Gutiérrez, A. (2008). Association of genetic polymorphisms of TNF- α and IL-10, regulatory cytokines of the immune response in infectious, allergic and autoimmune diseases. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12(1), 38–53. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/262759759>
- Castellanos-Hernández, H., Velázquez-Macías, R. F., Cruz García-Villa, P., Navarro-Vargas, J. C., & Figueroa-Zarza, M. (2013). Antiinflamatorios no esteroides como factor de riesgo de hematuria macroscópica en biopsia transrectal de próstata. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 18(2), 81–86.
- Castillo-Jimenez, E., Bendaña-Lainez, C., & Sabillón-Vallecillo, N. (2005). Niveles histológicos en biopsia por aguja de prostata: importancia diagnóstica. *Revista Médica Hondureña*, 73, 155–160.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Prostate Cancer Awareness Feature. Retrieved September 21, 2019, from <https://www.cdc.gov/cancer/dcpc/resources/features/prostatecancer/index.htm>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Retrieved September 19, 2019, from <https://www.cdc.gov/>
- Chacko, P., Rajan, B., Joseph, T., Mathew, B. S., & Pillai, M. R. (2005). Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and increased genetic susceptibility to breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 89(1), 15–21. <https://doi.org/10.1007/s10549-004-1004-x>
- Chakraborty, B., Vishnoi, G., Gowda, S. H., & Goswami, B. (2017). Interleukin-6 gene-174 G/C promoter polymorphism and its association with clinical profile of patients with multiple myeloma. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 13(5), e402–e407. <https://doi.org/10.1111/ajco.12290>
- Chang, S. H., & Dong, C. (2007). A novel heterodimeric cytokine consisting of IL-17 and IL-17F regulates inflammatory responses. *Cell Research*, 17(5), 435–440. <https://doi.org/10.1038/cr.2007.35>
- Chen, C., Gong, M., Yi, Q., & Guo, J. (2015). Role of interleukin-6 gene polymorphisms in the development of prostate cancer. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 13370–13374. <https://doi.org/10.4238/2015.October.26.34>
- Chen, X., Zhang, L., Chang, Y., Shen, T., Wang, L., Zhuang, H., & Lu, F. (2011). Association of TNF- α genetic polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population. *International Journal of Biological Markers*, 26(3), 181–187. <https://doi.org/10.5301/JBM.2011.8580>

- Chen, Y., Zhang, X., Niu, X., Xin, D., Zhao, W., Na, Y., & Mao, Z. (2010). Macrophage migration inhibitory factor is a direct target of HBP1-mediated transcriptional repression that is overexpressed in prostate cancer. *Oncogene*, 29(21), 3067–3078. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.97>
- Cho, M.-L., Jung, Y.-O., Moon, Y.-M., Min, S.-Y., Yoon, C.-H., Lee, S.-H., ... Kim, H.-Y. (2006). Interleukin-18 induces the production of vascular endothelial growth factor (VEGF) in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via AP-1-dependent pathways. *Immunology Letters*, 103(2), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2005.10.020>
- Chu, H., Zhao, Q., Wang, S., Wang, M., Xu, M., Gao, Y., ... Wu, D. (2013). Tagging SNPs in the ERCC4 gene are associated with gastric cancer risk. *Gene*, 521(1), 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.046>
- Ciccia, A., McDonald, N., & West, S. C. (2008). Structural and Functional Relationships of the XPF/MUS81 Family of Proteins. *Annual Review of Biochemistry*, 77(1), 259–287. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.070306.102408>
- Çil, E., Kumral, A., Kanmaz-Özer, M., Vural, P., Doğru-Abbasoğlu, S., Altuntaş, Y., & Uysal, M. (2014). Interleukin-10-1082 gene polymorphism is associated with papillary thyroid cancer. *Molecular Biology Reports*, 41(5), 3091–3097. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3169-7>
- Clarke, G. M., Anderson, C. A., Pettersson, F. H., Cardon, L. R., Morris, A. p, & Zondervan, K. T. (2011). Basic statistical analysis in genetic case-control studies. *Nature Protocols*, 6(2), 121–133. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.182>.Basic
- Clinical Trials Arena. (2019). Treatment of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer (mCRPC). Retrieved October 9, 2019, from https://www.clinicaltrialsarena.com/projects/drug_abiateronecance/
- Colakogullari, M., Ulukaya, E., Oral, A.-Y., Aymak, F., Basturk, B., Ursavas, A., & Oral, H. B. (2008). The involvement of IL-10, IL-6, IFN-gamma, TNF-alpha and TGF-beta gene polymorphisms among Turkish lung cancer patients. *Cell Biochemistry and Function*, 26, 283–290. <https://doi.org/10.1002/cbf.1419>
- Cong, J., Liu, R., Wang, X., Sheng, L., Jiang, H., Wang, W., ... Li, C. (2015). Association between interleukin-17 gene polymorphisms and the risk of laryngeal cancer in a Chinese population. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(8), 9567–9573.
- Cordano, P., Lake, A., Shield, L., Taylor, G., Alexander, F. E., Taylor, P. R., ... Jarrett, R. F. (2005). Effect of IL-6 promoter polymorphism on incidence and outcome in Hodgkin's lymphoma. *British Journal of Haematology*, 128(4), 493–495. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2004.05353.x>

- Cozen, W., Gebregziabher, M., Conti, D. V., Van Den Berg, D. J., Coetzee, G. A., Wang, S. S., ... Ingles, S. A. (2006). Interleukin-6-related genotypes, body mass index, and risk of multiple myeloma and plasmacytoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 15(11), 2285–2291. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0446>
- Culig, Z., Steiner, H., Bartsch, G., & Hobisch, A. (2005). Interleukin-6 regulation of prostate cancer cell growth. *Journal of Cellular Biochemistry*, 95(3), 497–505. <https://doi.org/10.1002/jcb.20477>
- Danforth, K. N., Rodriguez, C., Hayes, R. B., Sakoda, L. C., Huang, W.-Y., Yu, K., ... Hsing, A. W. (2008). TNF polymorphisms and prostate cancer risk. *Prostate*, 68, 400–407. <https://doi.org/10.1002/pros.20694>
- Davenport, M., Zhang, C., Leppert, J., Brooks, J., & Eisenberg, M. (2019). Vasectomy and the risk of prostate cancer in a prospective US Cohort: Data from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Andrology*, 7(2), 178–183. <https://doi.org/10.1111/andr.12570>
- De Angulo, A., Faris, R., Daniel, B., Jolly, C., & DeGraffenried, L. (2015). Age-related increase in IL-17 activates pro-inflammatory signaling in prostate cells. *Prostate*, 75(5), 449–462. <https://doi.org/10.1002/pros.22931>
- De Marzo, A. M., Platz, E. A., Sutcliffe, S., Xu, J., Grönberg, H., Drake, C. G., ... Nelson, W. G. (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 7(4), 256–269. <https://doi.org/10.1038/nrc2090>
- de Oncología Médica, S. (2017). Las cifras del cáncer en España. SEOM.
- de Oncología Médica, S. (2019). SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica. Retrieved September 18, 2019, from <https://seom.org/>
- Deans, C., Rose-Zerilli, M., Wigmore, S., Ross, J., Howell, M., Jackson, A., ... Fearon, K. (2007). Host cytokine genotype is related to adverse prognosis and systemic inflammation in gastro-oesophageal cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 14(2), 329–339. <https://doi.org/10.1245/s10434-006-9122-9>
- Deeks, J. (1998). When can odds ratios mislead? Odds ratios should be used only in case-control studies and logistic regression analyses. *BMJ Letters*, 317(7166), 1155–1156. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7166.1154a>
- Deepika, M., Reddy, K. R., Yashwanth, A., Rani, V. U., Latha, K. P., & Jahan, P. (2013). TNF- α haplotype association with polycystic ovary syndrome - A South Indian study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(11), 1493–1503. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0080-4>
- Dehaghani, A. S., Shahriary, K., Kashef, M. A., Naeimi, S., Fattahi, M. J., Mojtahedi, Z., & Ghaderi, A. (2009). Interleukin-18 gene promoter and serum level in women with ovarian cancer. *Molecular Biology Reports*, 36(8), 2393–2397. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9469-7>

- Dehé, P.-M., & Gaillard, P.-H. L. (2017). Control of structure-specific endonucleases to maintain genome stability. *Nature Reviews - Molecular Cell Biology*, 18(5), 315–330. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.177>
- DeVita, V. T., Hellman, S., & Rosenberg, S. A. (2005). *Cancer, principles and practice of oncology* (7th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Di Paolo, N. C., & Shayakhmetov, D. M. (2016). Interleukin 1 α and the inflammatory process. *Nature Immunology*, 17(8), 906–913. <https://doi.org/10.1038/ni.3503>
- Dianov, G. L., Prasad, R., Wilson, S. H., & Bohr, V. A. (1999). Role of DNA polymerase β in the excision step of long patch mammalian base excision repair. *Journal of Biological Chemistry*, 274(20), 13741–13743. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.20.13741>
- Dinarello, C. A. (1999a). IL-18: A th1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 103(1), 11–24.
- Dinarello, C. A. (1999b). Interleukin-18. *Methods*, 19, 121–132.
- Dinarello, C. A. (2009). Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annual Review of Immunology*, 27(1), 519–550. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132612>
- Ding, J., Wu, W., Yang, J., & Wu, M. (2019). Long non-coding RNA MIF-AS1 promotes breast cancer cell proliferation, migration and EMT process through regulating miR-1249-3p/HOXB8 axis. *Pathology - Research and Practice*, 215(7), 152376. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.03.005>
- Dluzniewski, P. J., Wang, M.-H., Zheng, S. L., De Marzo, A. M., Drake, C. G., Fedor, H. L., ... Platz, E. A. (2012). Variation in IL10 and other genes involved in the immune response and in oxidation and prostate cancer recurrence. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 21(10), 1774–1782. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-0458>
- Dorak, M. (2017). Genetic Epidemiology Glossary. Retrieved December 15, 2017, from <http://www.dorak.info/epi/glosge.html>
- dos Santos, M. P., Sallas, M. L., Zapparoli, D., Orcini, W. A., Chen, E., Smith, M. de A. C., ... Rasmussen, L. T. (2018). Lack of Association between IL-6 Polymorphisms and Haplotypes with Gastric Cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(6), 9448–9454. <https://doi.org/10.1002/jcb.28220>
- Dossus, L., Kaaks, R., Canzian, F., Albanes, D., Berndt, S. I., Boeing, H., ... Cox, D. G. (2010). PTGS2 and IL6 genetic variation and risk of breast and prostate cancer: Results from the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3). *Carcinogenesis*, 31(3), 455–461. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp307>
- Du, Y., Han, X., Pu, R., Xie, J., Zhang, Y., & Cao, G. (2014). Association of miRNA-122-binding site polymorphism at the interleukin-1 α gene and its interaction with hepatitis B virus mutations with hepatocellular carcinoma risk. *Frontiers of Medicine in China*, 8(2), 217–226. <https://doi.org/10.1007/s11684-014-0326-2>

- Duell, E. J., Holly, E. A., Bracci, P. M., Wiencke, J. K., & Kelsey, K. T. (2002). A population-based study of the Arg399Gln polymorphism in X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) and risk of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Research*, 62(16), 4630–4636.
- Duell, E. J., Millikan, R. C., Pittman, G. S., Winkel, S., Lunn, R. M., Tse, C. K. J., ... Bell, D. A. (2001). Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 10(3), 217–222.
- Durán, F. R., Denes, J. M., Soto-Cid, A. H., Aranda-Abreu, G. E., Aguilar, E. J., Coria-Ávila, G. A., ... Hernández Aguilar, M. E. (2011). El receptor a andrógenos en la fisiopatología prostática. *Revista ENeurobiología*, 2(2), 230511.
- Dutta, S., Chakraborty, C., Mandal, R. K., Basu, P., Biswas, J., Roychoudhury, S., & Panda, C. K. (2015). Persistent HPV16/18 infection in Indian women with the A-allele (rs6457617) of HLA-DQB1 and T-allele (rs16944) of IL-1 β -511 is associated with development of cervical carcinoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 64(7), 843–851. <https://doi.org/10.1007/s00262-015-1693-5>
- Eaton, K. D., Romine, P. E., Goodman, G. E., Thornquist, M. D., Barnett, M. J., & Petersdorf, E. W. (2018). Inflammatory Gene Polymorphisms in Lung Cancer Susceptibility. *Journal of Thoracic Oncology*, 13(5), 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.01.022>
- Eder, T., Mayer, R., Langsenlehner, U., Renner, W., Kripl, P., Wascher, T. C., ... Kapp, K. S. (2007). Interleukin-10 [ATA] promoter haplotype and prostate cancer risk: A population-based study. *European Journal of Cancer*, 43(3), 472–475. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.11.003>
- EEUU, I. N. de la S. de. (2019). Instituto Nacional del Cáncer. Retrieved September 17, 2019, from <https://www.cancer.gov/espanol>
- Eiró, N., & Vizoso, F. J. (2012). Inflammation and Cancer. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, 4(3), 62–72. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v4.i3.62>
- Eissa, S. AL, Zaki, S. A., El-Maghraby, S. M., & Kadry, D. Y. (2005). Importance of serum IL-18 and RANTES as markers for breast carcinoma progression. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 17(1), 51–55.
- El-Omar, E. M., Carrington, M., Chow, W.-H., McColl, K. EL, Bream, J. H., Young, H. A., ... Rabkin, C. S. (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, 404(6776), 398–402. <https://doi.org/10.1038/35006081>
- El-Omar, E. M., Rabkin, C. S., Gammon, M. D., Vaughan, T. L., Risch, H. A., Schoenberg, J. B., ... Wong-Ho, C. (2003). Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*, 124(5), 1193–1201. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00157-4](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00157-4)
- Elkhwaji, J. E. (2013). The role of inflammatory mediators in the development of prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Research and Reports in Urology*, 5, 1–10. <https://doi.org/10.2147/RRU.S23386>

- Ennas, M. G., Moore, P. S., Zucca, M., Angelucci, E., Cabras, M. G., Melis, M., ... Cocco, P. (2008). Interleukin-1B (IL1B) and interleukin-6 (IL6) gene polymorphisms are associated with risk of chronic lymphocytic leukaemia. *Hematological Oncology*, 26, 98–103. <https://doi.org/10.1002/hon.843>
- Ensembl. (2019). rs2070767 (SNP) - Ensembl genome browser 97. Retrieved August 24, 2019, from http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=CHR_HSCHR22_1_CTG7:23894776-23895776;v=rs2070767;vdb=variation;vf=674109470
- Espinoza, J. L., Takami, A., Nakata, K., Onizuka, M., Kawase, T., Akiyama, H., ... Nakao, S. (2011). A genetic variant in the IL-17 promoter is functionally associated with acute graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation. *PLoS ONE*, 6(10), e26229. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026229>
- Estrada-Carrasco, C., Flores-Terrazas, J., Floriano-Sánchez, E., Castro-Marín, M., López-Silvestre, J., Campos-Salcedo, J., ... Cárdenas-Rodríguez, N. (2010). Regulación de enzimas antioxidantes como marcadores tumorales de la próstata. *Revista Mexicana de Urología*, 70(3), 157–163.
- Fagbemi, A. F., Orelli, B., & Schärer, O. D. (2011). Regulation of endonuclease activity in human nucleotide excision repair. *DNA Repair*, 10(7), 722–729. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2011.04.022>
- Falleti, E., Fabris, C., Toniutto, P., Fontanini, E., Cussigh, A., Bitetto, D., ... Pirisi, M. (2009). Interleukin-6 polymorphisms and gender: Relationship with the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with end-stage liver disease. *Oncology*, 77(5), 304–313. <https://doi.org/10.1159/000260057>
- Farhat, K., Hassen, E., Bouzgarrou, N., Gabbouj, S., Bouaouina, N., & Chouchane, L. (2008). Functional IL-18 promoter gene polymorphisms in Tunisian nasopharyngeal carcinoma patients. *Cytokine*, 43(2), 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.05.004>
- Farjadfar, A., Mojtahedi, Z., Ghayumi, M. A., Erfani, N., Haghshenas, M. R., & Ghaderi, A. (2009). Interleukin-18 promoter polymorphism is associated with lung cancer: A case-control study. *Acta Oncologica*, 48(7), 971–976. <https://doi.org/10.1080/02841860902878145>
- Faupel-Badger, J. M., Kidd, L. C. R., Albanes, D., Virtamo, J., Woodson, K., & Tangrea, J. A. (2008). Association of IL-10 polymorphisms with prostate cancer risk and grade of disease. *Cancer Causes and Control*, 19(2), 119–124. <https://doi.org/10.1007/s10552-007-9077-6>
- Ferrís-i-Tortajada, J., García-i-Castell, J., Berbel-Tornero, O., & Ortega-García, J. A. (2011). Factores de riesgo constitucionales en el cáncer de próstata. *Actas Urológicas Españolas*, 35(5), 282–288. <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2010.12.009>

- Festa, F., Kumar, R., Sanyal, S., Undén, B., Nordfors, L., Lindholm, B., ... Hemminki, K. (2005). Basal cell carcinoma and variants in genes coding for immune response, DNA repair, folate and iron metabolism. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 574(1-2 SPEC. ISS.), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.01.026>
- Finkel, T., Serrano, M., & Blasco, M. A. (2007). The common biology of cancer and ageing. *Nature*, 448(7155), 767–774. <https://doi.org/10.1038/nature05985>
- Fortis, C., Foppoli, M., Gianotti, L., Galli, L., Citterio, G., Consogno, G., ... Braga, M. (1996). Increased interleukin-10 serum levels in patients with solid tumours. *Cancer Letters*, 104(1), 1–5. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(96\)04213-9](https://doi.org/10.1016/0304-3835(96)04213-9)
- Fossiez, F., Banchereau, J., Murray, R., Van Kooten, C., Garrone, P., & Lebecque, S. (1998). Interleukin-17. *International Reviews of Immunology*, 16(5–6), 541–551.
- Gaffen, S. L. (2009). Structure and signalling in the IL-17 receptor superfamily. *Natural Reviews Immunology*, 9(8), 556. <https://doi.org/10.1038/nri2586>.
- Gaffen, S. L. (2011). Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Current Opinion in Immunology*, 23(5), 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.07.006>.
- Gallicchio, L., McSorley, M. A., Newschaffer, C. J., Huang, H.-Y., Thuita, L. W., Hoffman, S. C., & Helzlsouer, K. J. (2007). Body mass, polymorphisms in obesity-related genes, and the risk of developing breast cancer among women with benign breast disease. *Cancer Detection and Prevention*, 31(2), 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.cdp.2007.02.004>
- Gao, Li, Flores, C., Ma, S., Miller, E. J., Moitra, J., Wadgaonkar, R., ... Garcia, J. G. (2007). Macrophage Migration Inhibitory Factor in Acute Lung Injury: Expression, Biomarker and Associations. *Translational Research*, 150(1), 18–29.
- Gao, Linbo, Zhu, X., Li, Z., Li, L., Wang, T., Hu, H., ... Zhang, L. (2014). Association between a functional insertion/deletion polymorphism in IL1A gene and risk of papillary thyroid carcinoma. *Tumor Biology*, 35(4), 3861–3865. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-1512-6>
- Gao, Y.-W., Xu, M., Xu, Y., Li, D., & Zhou, S. (2015). Effect of three common IL-17 single nucleotide polymorphisms on the risk of developing gastric cancer. *Oncology Letters*, 9, 1398–1402. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2827>
- Gao, Y., He, Y., Ding, J., Wu, K., Hu, B., Liu, Y., ... Liu, H. (2009). An insertion/deletion polymorphism at miRNA-122-binding site in the interleukin-1 α 3' untranslated region confers risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, 30(12), 2064–2069. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp283>
- García-Closas, M., Jacobs, K., Kraft, P., & Chatterjee, N. (2011). Analysis of epidemiologic studies of genetic effects and gene-environment interactions. *IARC Scientific Publications*, 163, 281–301.

- García-Foncillas, J. (2003). *Biología molecular en cáncer* (1th ed.). Barcelona: Prous Science SA.
- Garrrity-Park, M. M., Loftus, E. V, Bryant, S. C., Sandborn, W. J., & Smyrk, T. C. (2008). Tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *American Journal of Gastroenterology*, 103(2), 407–415. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01572.x>
- Gaudet, M. M., Egan, K. M., Lissowska, J., Newcomb, P. A., Brinton, L. A., Titus-Ernstoff, L., ... Garcia-Closas, M. (2007). Genetic variation in tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha (TNF-LTA) and breast cancer risk. *Human Genetics*, 121(3–4), 483–490. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0315-x>
- Gaudet, M. M., Milne, R. L., Cox, A., Camp, N. J., Goode, E. L., Humphreys, K., ... Raffi, S. (2009). Five polymorphisms and breast cancer risk: results from the breast cancer association consortium. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 18(5), 1610–1616. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0745>.
- Gaur, P., Mittal, M., Mohanti, B., & Das, S. N. (2011). Functional variants of IL4 and IL6 genes and risk of tobacco-related oral carcinoma in high-risk Asian Indians. *Oral Diseases*, 17(7), 720–726. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01831.x>
- Geng, J., Zhang, Q., Zhu, C., Wang, J., & Chen, L. (2009). XRCC1 Genetic Polymorphism Arg399Gln and Prostate Cancer Risk: A Meta-analysis. *Urology*, 74(3), 648–653. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2009.02.046>
- Ghavami, S. B., Chaleshi, V., Derakhshani, S., Aimzadeh, P., Asadzadeh-Aghdaie, H., & Zali, M. R. (2017). Association between TNF- α rs1799964 and RAF1 rs1051208 MicroRNA binding site SNP and gastric cancer susceptibility in an Iranian population. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 10(3), 214–219. <https://doi.org/10.22037/ghfbb.v0i0.1063>
- Giedraitis, V., He, B., Huang, W.-X., & Hillert, J. (2001). Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: A possible role of polymorphisms in expression regulation. *Journal of Neuroimmunology*, 112(1–2), 146–152. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(00\)00407-0](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(00)00407-0)
- Gleason, D. F. (1992). Histologic grading of prostate cancer: A perspective. *Human Pathology*, 23(3), 273–279. [https://doi.org/10.1016/0046-8177\(92\)90108-F](https://doi.org/10.1016/0046-8177(92)90108-F)
- Gleason, D. F., Mellinger, G. T., Arduino, L. J., Bailar, J. C., Becker, L. E., Berman, H. I., ... Quiambao, V. R. (2017). Prediction of Prognosis for Prostatic Adenocarcinoma by Combined Histological Grading and Clinical Staging. *The Journal of Urology*, 197, S134–S139. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.10.099>
- Gong, Z., Quan, L., Yao, S., Zirpoli, G., Bandera, E. V, Roberts, M., ... Hong, C.-C. (2013). Innate Immunity Pathways and Breast Cancer Risk in African American and European-American Women in the Women's Circle of Health Study (WCHS). *PLoS ONE*, 8(8), e72619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072619>

- Gonullu, G., Basturk, B., Evrensel, T., Oral, B., Gozkaman, A., & Manavoglu, O. (2007). Association of breast cancer and cytokine gene polymorphism in Turkish women. *Saudi Medical Journal*, 28(11), 1728–1733.
- González-Zuloeta Ladd, A., Arias-Vásquez, A., Witteman, J., Uitterlinden, A., Coebergh, J., Hofman, A., ... van Duijn, C. (2006). Interleukin 6 G-174 C polymorphism and breast cancer risk. *European Journal of Epidemiology*, 21(5), 373–376. <https://doi.org/10.1007/s10654-006-9005-1>
- Goode, E. L., Ulrich, C. M., & Potter, J. D. (2002). Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 11(12), 1513–1530.
- Gregg, S. Q., Robinson, A. R., & Niedernhofer, L. J. (2011). Physiological consequences of defects in ERCC1-XPF DNA repair endonuclease. *DNA Repair*, 10(7), 781–791. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2011.04.026>.
- Grimm, C., Watrowski, R., Baumühlner, K., Natter, C., Tong, D., Wolf, A., ... Hefler, L. (2011). Genetic variations of interleukin-1 and -6 genes and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecologic Oncology*, 121(3), 537–541. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2011.02.019>
- Gu, X., Shen, Y., Fu, L., Zuo, H.-Y., Yasen, H., He, P., ... Yusufu, M. (2014). Polymorphic variation of inflammation-related genes and risk of non-hodgkin lymphoma for Uygur and Han Chinese in Xinjiang. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(21), 9177–9183. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.21.9177>
- Günel, N., Coşkun, U., Sancak, B., Günel, U., Hasdemir, O., & Bozkurt, Ş. (2002). Clinical importance of serum interleukin-18 and nitric oxide activities in breast carcinoma patients. *Cancer*, 95(3), 663–667. <https://doi.org/10.1002/cncr.10705>
- Günel, N., Coşkun, U., Sancak, B., Hasdemir, O., Sare, M., Bayram, O., ... Ozkan, S. (2003). Prognostic value of serum IL-18 and nitric oxide activity in breast cancer patients at operable stage. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*, 26(4), 416–421. <https://doi.org/10.1097/01.COC.0000027416.15170.53>
- Gunter, M. J., Canzian, F., Landi, S., Chanock, S. J., Sinha, R., & Rothman, N. (2006). Inflammation-related gene polymorphisms and colorectal adenoma. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 15(6), 1126–1131. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0042>
- Guttmacher, A. E., & Collins, F. S. (2002). Genomic Medicine — A Primer. *New England Journal of Medicine*, 347(19), 1512–1520. <https://doi.org/10.1056/NEJMra012240>
- Haghshenas, M.-R., Hosseini, S.-V., Mahmoudi, M., Saberi-Firozi, M., Farjadian, S., & Ghaderi, A. (2009). IL-18 serum level and IL-18 promoter gene polymorphism in Iranian patients with gastrointestinal cancers. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 24(6), 1119–1122. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.05791.x>

- Hamano, T., Matsui, H., Ohtake, N., Nakata, S., & Suzuki, K. (2008). Polymorphisms of DNA repair genes, XRCC1 and XRCC3, and susceptibility to familial prostate cancer in a Japanese population. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 4(1), 21–26. <https://doi.org/10.1111/j.1743-7563.2008.00140.x>
- Hashemi, M., Bahari, G., Sarhadi, S., Eskandari, E., Narouie, B., Taheri, M., & Ghavami, S. (2018). 4-bp insertion/deletion (rs3783553) polymorphism within the 3'UTR of IL1A contributes to the risk of prostate cancer in a sample of Iranian population. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(3), 2627–2635. <https://doi.org/10.1002/jcb.26427>
- Hawken, S. J., Greenwood, C. M., Hudson, T. J., Kustra, R., McLaughlin, J., Yang, Q., ... Little, J. (2010). The utility and predictive value of combinations of low penetrance genes for screening and risk prediction of colorectal cancer. *Human Genetics*, 128(1), 89–101. <https://doi.org/10.1007/s00439-010-0828-1>
- He, Q., Fu, Y., Tian, D., & Yan, W. (2018). The contrasting roles of inflammasomes in cancer. *American Journal of Cancer Research*, 8(4), 566–583. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29736304> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5934549>
- He, Y., Du, Y., Wei, S., Shi, J., Mei, Z., Qian, L., ... Jie, Z. (2015). IL-17A and IL-17F single nucleotide polymorphisms associated with lung cancer in Chinese population. *The Clinical Respiratory Journal*, 0, 000–000. <https://doi.org/10.1111/crj.12330>
- Hefler, L. A., Grimm, C., Lantzsch, T., Lampe, D., Leodolter, S., Koelbl, H., ... Zeillinger, R. (2005). Interleukin-1 and interleukin-6 gene polymorphisms and the risk of breast cancer in Caucasian women. *Clinical Cancer Research*, 11(16), 5718–5721. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-0001>
- Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., & Uller-Newen, G. M. (2003). Principles of IL 6 type cytokine signaling and its regulating. *Biochemical Journal*, 374, 1–20. Retrieved from <https://sci-hub.tw/10.1042/bj20030407>
- Heinrich, P. C., Behrmann, I., Müller-Newen, G., Schaper, F., & Graeve, L. (1998). Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochemical Journal*, 334, 297–314.
- Helle, M., Brakenhoff, J. P., De Groot, E. R., & Aarden, L. A. (1988). Interleukin 6 is involved in interleukin 1-induced activities. *European Journal of Immunology*, 18(6), 957–959. <https://doi.org/10.1002/eji.1830180619>
- Herder, C., Klopp, N., Baumert, J., Müller, M., Khuseyinova, N., Meisinger, C., ... Thorand, B. (2008). Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene variants and MIF serum concentrations on the risk of type 2 diabetes: Results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study, 1984–2002. *Diabetologia*, 51(2), 276–284. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0800-3>

- Hirankarn, N., Kimkong, I., Kummee, P., Tangkijvanich, P., & Poovorawan, Y. (2006). Interleukin-1 β gene polymorphism associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus infection. *World Journal of Gastroenterology*, 12(5), 776–779. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i5.776>
- Hirata, H., Hinoda, Y., Tanaka, Y., Okayama, N., Suehiro, Y., Kawamoto, K., ... Dahiya, R. (2007). Polymorphisms of DNA repair genes are risk factors for prostate cancer. *European Journal of Cancer*, 43(2), 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.11.005>
- Ho, S.-Y., Wang, Y.-J., Huang, P.-C., Tsai, S.-T., Chen, C.-H., Chen, H. H., ... Guo, H.-R. (2006). Evaluation of the associations between the single nucleotide polymorphisms of the promoter region of the tumor necrosis factor- α gene and nasopharyngeal carcinoma. *Journal of the Chinese Medical Association*, 69(8), 351–357. [https://doi.org/10.1016/S1726-4901\(09\)70272-2](https://doi.org/10.1016/S1726-4901(09)70272-2)
- Hooker, S., Bonilla, C., Akereyeni, F., Ahaghotu, C., & Kittles, R. (2008). NAT2 and NER genetic variants and sporadic prostate cancer susceptibility in African Americans. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 11(4), 349–356. <https://doi.org/10.1038/sj.pcan.4501027>
- Horita, N., & Kaneko, T. (2015). Genetic model selection for a case-control study and a meta-analysis. *Meta Gene*, 5, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2015.04.003>
- Hou, C., & Yang, F. (2015). Interleukin-17A gene polymorphism is associated with susceptibility to gastric cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(6), 7378–7384.
- Howell, W. M., & Rose-Zerilli, M. J. (2006). Interleukin-10 Polymorphisms, Cancer Susceptibility and Prognosis. *Familial Cancer*, 5(2), 143–149. <https://doi.org/10.1007/s10689-005-0072-3>
- Hsing, A. W., & Chokkalingam, A. P. (2006). Prostate cancer epidemiology. *Frontiers in Bioscience*, 11, 1388–1413.
- Huang, J., Ni, S., Li, D., & He, Y. (2015). An insertion/deletion polymorphism at miRNA-122 binding site in the IL1A is associated with a reduced risk of cervical squamous cell carcinoma. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 19(6), 331–334. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2015.0015>
- Humphrey, P. A. (2004). Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Modern Pathology*, 17(3), 292–306. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800054>
- Huppler, A. R., Bishu, S., & Gaffen, S. L. (2012). Mucocutaneous candidiasis: The IL-17 pathway and implications for targeted immunotherapy. *Arthritis Research and Therapy*, 14(4), 217. <https://doi.org/10.1186/ar3893>
- Husby, A., Wohlfahrt, J., & Melbye, M. (2019). Vasectomy and Prostate Cancer Risk: A 38-Year Nationwide Cohort Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 112(1), 1–7. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz099>

- Hussain, F., Freissmuth, M., Völkel, D., Thiele, M., Douillard, P., Antoine, G., ... Kerschbaumer, R. J. (2013). Human anti-macrophage migration inhibitory factor antibodies inhibit growth of human prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Molecular Cancer Therapeutics*, 12(7), 1223–1234. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0988>
- Ianni, M., Porcellini, E., Carbone, I., Potenzoni, M., Pieri, A., Pastizzaro, C., ... Licastro, F. (2013). Genetic factors regulating inflammation and DNA methylation associated with prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 16(1), 56–60. <https://doi.org/10.1038/pcan.2012.30>
- Ichiyama, K., Sekiya, T., Inoue, N., Tamiya, T., Kashiwagi, I., Kimura, A., ... Yoshimura, A. (2011). Transcription Factor Smad-Independent T Helper 17 Cell Induction by Transforming-Growth Factor- β Is Mediated by Suppression of Eomesodermin. *Immunity*, 34(5), 741–754. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.02.021>
- ISCIII - Instituto de Salud Carlos III. (2019). Retrieved September 10, 2018, from <https://www.isciii.es/Paginas/Inicio.aspx>
- Ivanov, I. I., Zhou, L., & Littman, D. R. (2007). Transcriptional Regulation of Th17 Cell Differentiation. *Seminars in Immunology*, 19(6), 409–417.
- Iwakura, Y., Ishigame, H., Saijo, S., & Nakae, S. (2011). Functional Specialization of Interleukin-17 Family Members. *Immunity*, 34(2), 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.02.012>
- Jablonska, E., Puzewska, W., Grabowska, Z., Jablonski, J., & Talarek, L. (2005). VEGF, IL-18 and NO production by neutrophils and their serum levels in patients with oral cavity cancer. *Cytokine*, 30(3), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2004.12.004>
- Jaiswal, P.-K., Singh, V., Srivastava, P., & Mittal, R.-D. (2013). Association of IL-12, IL-18 variants and serum IL-18 with bladder cancer susceptibility in North Indian population. *Gene*, 519(1), 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.01.025>
- Jameson, J. L., Kasper, D. L., Longo, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., & Loscalzo, J. (2005). *Harrison's principles of internal medicine*. (16th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Jin, L., Sturgis, E. M., Zhang, Y., Huang, Z., Song, X., Li, C., ... Li, G. (2013). Association of tumor necrosis factor-alpha promoter variants with risk of HPV-associated oral squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*, 12(1), 80. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-12-80>
- Jin, Y.-J., Lee, D., Chung, Y.-H., Kim, J. A., Kim, S. E., Lee, Y.-S., ... Park, N. H. (2015). Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism associated with development of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 49(8), e76–e81. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000261>
- Jones, L. L., & Vignali, D. A. (2011). Molecular interactions within the IL-6/IL-12 cytokine/receptor superfamily. *Immunology Research*, 51(1), 5–14. <https://doi.org/10.1007/s12026-011-8209-y>

- Jureceková, J., Drobková, H., Šarlinová, M., Babusíková, E., Sivonová, M. K., Matáková, T., ... Halasová, E. (2018). The Role of Interleukin-6 Polymorphism (rs1800795) in Prostate Cancer Development and Progression. *Anticancer Research*, 38(6), 3663–3667. <https://doi.org/10.21873/anticancer.12643>
- Kaabachi, W., Amor, A. ben, Kaabachi, S., Rafrafi, A., Tizaoui, K., & Hamzaoui, K. (2014). Interleukin-17A and -17F genes polymorphisms in lung cancer. *Cytokine*, 66(1), 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.12.012>
- Kalina, U., Ballas, K., Koyama, N., Kauschat, D., Miething, C., Arnemann, J., ... Ottmann, O. (2000). Genomic organization and regulation of the human Interleukin-18 gene. *Scandinavian Journal of Immunology*, 52, 525–530. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(00\)00008-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(00)00008-7)
- Kallioliass, G. D., & Ivashkiv, L. B. (2016). TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.169>
- Kamangar, F., Abnet, C. C., Hutchinson, A. A., Newschaffer, C. J., Helzlsouer, K., Shugart, Y. Y., ... Taylor, P. R. (2006). Polymorphisms in inflammation-related genes and risk of gastric cancer (Finland). *Cancer Causes and Control*, 17(1), 117–125. <https://doi.org/10.1007/s10552-005-0439-7>
- Kapitanović, S., Čačev, T., Ivković, T. C., Lončar, B., & Aralica, G. (2014). TNF α gene/protein in tumorigenesis of sporadic colon adenocarcinoma. *Experimental and Molecular Pathology*, 97(2), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2014.08.003>
- Karakaxas, D., Gazouli, M., Coker, A., Agalianos, C., Papanikolaou, I. S., Patapis, P., ... Dervenis, C. (2014). Genetic polymorphisms of inflammatory response gene TNF- α and its influence on sporadic pancreatic neuroendocrine tumors predisposition risk. *Medical Oncology*, 31(10), 241. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0241-z>
- Karp, G., Patton, J. G., Blengio-Pinto, J. R., & Pérez Tamayo Ruiz, A. M. (2014). *Biología celular y molecular: Conceptos y experimentos* (7th ed.). México DF: Mc Graw Hill Interamericana.
- Kawaguchi, M., Adachi, M., Oda, N., Kokubu, F., & Huang, S.-K. (2004). IL-17 cytokine family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(6), 1265–1273. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.10.019>
- Keogh, R. H., & Cox, D. (2014). *Case-Control Studies*. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139094757>
- Kesarwani, P., Ahirwar, D. K., Mandhani, A., Singh, A. N., Dalela, D., Srivastava, A. N., & Mittal, R. D. (2009). IL-10 -1082 G>A: A risk for prostate cancer but may be protective against progression of prostate cancer in North Indian cohort. *World Journal of Urology*, 27(3), 389–396. <https://doi.org/10.1007/s00345-008-0361-1>

- Kesarwani, P., Mandhani, A., & Mittal, R. D. (2009). Polymorphisms in Tumor Necrosis Factor- α Gene and Prostate Cancer Risk in North Indian Cohort. *Journal of Urology*, 182(6), 2938–2943. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.08.016>
- Khalili-Azad, T., Razmkhah, M., Ghiam, A., Doroudchi, M., Talei, A., Mojtahedi, Z., & Ghaderi, A. (2009). Association of Interleukin-18 gene promoter polymorphisms with breast cancer. *Neoplasma*, 56(1), 22–25. https://doi.org/doi:10.4149/neo_2009_01_22
- Kidane, D., Chae, W. J., Czochor, J., Eckert, K. A., Glazer, P. M., Bothwell, A. L., & Sweasy, J. B. (2014). Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 49(2), 116–139. <https://doi.org/10.3109/10409238.2013.875514>
- Kietthubthaw, S., Wickliffe, J., Sriplung, H., Ishida, T., Chonmaitree, T., & Au, W. W. (2010). Association of polymorphisms in proinflammatory cytokine genes with the development of oral cancer in Southern Thailand. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213(2), 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.01.002>
- Kim, B.-S., Pallua, N., Bernhagen, J., & Bucala, R. (2015). The macrophage migration inhibitory factor protein superfamily in obesity and wound repair. *Experimental and Molecular Medicine*, 47(e161). <https://doi.org/10.1038/emm.2015.26>
- Kim, B., & Kim, C. K. (2013). Embryology, Anatomy, and Congenital Anomalies of the Prostate and Seminal Vesicles. In *Abdominal Imaging* (pp. 1797–1812). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13327-5_214
- Kindt, T. J., Goldsby, R. A., & Osborne, B. A. (2007). *Inmunología de Kuby*. (M.-H. I. E. SA, Ed.) (6^a). México DF.
- Kiyohara, C., Horiuchi, T., Takayama, K., & Nakanishi, Y. (2014). Genetic polymorphisms involved in the inflammatory response and lung cancer risk: A case-control study in Japan. *Cytokine*, 65(1), 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.09.015>
- Kleemann, R., & Bucala, R. (2010). Macrophage migration inhibitory factor: Critical role in obesity, insulin resistance, and associated comorbidities. *Mediators of Inflammation*, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/610479>
- Knol, M. (2012). Down with odds ratios: risk ratios in cohort studies and randomised clinical trials. *Nederlands Tijdschrift Geneeskunde*, 156(28), A4775.
- Kohaar, I., Tiwari, P., Kumar, R., Nasare, V., Thakur, N., Das, B. C., & Bharadwaj, M. (2009). Association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in TNF-LTA locus with breast cancer risk in Indian population. *Breast Cancer Research and Treatment*, 114(2), 347–355. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-0006-5>
- Krumm, B., Xiang, Y., & Deng, J. (2014). Structural biology of the IL-1 superfamily: Key cytokines in the regulation of immune and inflammatory responses. *The Protein Science*, 23(5), 526–538. <https://doi.org/10.1002/pro.2441>

- Kuasne, H., Rodrigues, I., Losi-Guembarovski, R., Reis, M., Fuganti, P., Gregório, E., ... Cólus, I. (2011). Base excision repair genes XRCC1 and APEX1 and the risk for prostate cancer. *Molecular Biology Reports*, 38(3), 1585–1591. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0267-z>
- Kubota, Y., Nash, R. A., Klungland, A., Schär, P., Barnes, D. E., & Lindahl, T. (1996). Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. *The EMBO Journal*, 15(23), 6662–6670. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb01056.x>
- Küry, S., Buecher, B., Robiou-du-Pont, S., Scoul, C., Colman, H., Le Neel, T., ... Bézieau, S. (2008). Low-penetrance alleles predisposing to sporadic colorectal cancers: A French case-controlled genetic association study. *BMC Cancer*, 8(1), 326. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-326>
- Kutikhin, A. G., Yuzhalin, A. E., Volkov, A. N., Zhivotovskiy, A. S., & Brusina, E. B. (2014). Correlation between genetic polymorphisms within IL-1B and TLR4 genes and cancer risk in a Russian population: A case-control study. *Tumor Biology*, 35(5), 4821–4830. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1633-6>
- Ladiges, W. (2006). Mouse models of XRCC1 DNA repair polymorphisms and cancer. *Oncogene*, 25, 1612–1619. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209370>
- Lan, Q., Zheng, T., Rothman, N., Zhang, Y., Wang, S. S., Shen, M., ... Chanock, S. (2006). Cytokine polymorphisms in the Th1/Th2 pathway and susceptibility to non-Hodgkin lymphoma. *Blood*, 107(10), 4101–4108. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-10-4160.Supported>
- Landi, S., Moreno, V., Gioia-Patricola, L., Guino, E., Navarro, M., De Oca, J., ... Canzian, F. (2003). Association of common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (IL)6, IL8, tumor necrosis factor α , NFKB1, and peroxisome proliferator-activated receptor γ with colorectal cancer. *Cancer Research*, 63(13), 3560–3566.
- Landskron, G., De La Fuente, M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., & Hermoso, M. A. (2014). Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology Research*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/149185>
- Latarjet, M., Liard, A., & Pró, E. (2004). *Anatomía Humana (Vol. 2)* (4th ed.). Madrid: Médica Panamericana.
- Lau, H.-K., Hsieh, M.-J., Yang, S.-F., Wang, H.-L., Kuo, W.-H., Lee, H.-L., & Yeh, C.-B. (2016). Association between interleukin-18 polymorphisms and hepatocellular carcinoma occurrence and clinical progression. *International Journal of Medical Sciences*, 13(7), 556–561. <https://doi.org/10.7150/ijms.15853>
- Lavie, C. J., Milani, R. V., & Ventura, H. O. (2009). Obesity and Cardiovascular Disease. Risk Factor, Paradox, and Impact of Weight Loss. *Journal of the American College of Cardiology*, 53(21), 1925–1932. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.12.068>

- Lebel-Binay, S., Thiounn, N., De Pinieux, G., Vieillefond, A., Debré, B., Bonnefoy, J. Y., ... Pagès, F. (2003). IL-18 is produced by prostate cancer cells and secreted in response to interferons. *International Journal of Cancer*, 106(6), 827–835. <https://doi.org/10.1002/ijc.11285>
- Lee, S.-G., Kim, B., Yook, J.-H., Oh, S.-T., Lee, I., & Song, K. (2004). TNF/LTA polymorphisms and risk for gastric cancer/duodenal ulcer in the Korean population. *Cytokine*, 28(2), 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2004.06.009>
- Lee, Y. C., Chung, J.-H., Kim, S. K., Rhee, S. Y., Chon, S., Oh, S. J., ... Eun, Y. G. (2015). Association between interleukin 17/interleukin 17 receptor gene polymorphisms and papillary thyroid cancer in Korean population. *Cytokine*, 71(2), 283–288. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.11.011>
- Leibovici, D., Grossman, H. B., Dinney, C. P., Millikan, R. E., Lerner, S., Wang, Y., ... Wu, X. (2005). Polymorphisms in inflammation genes and bladder cancer: From initiation to recurrence, progression, and survival. *Journal of Clinical Oncology*, 23(24), 5746–5756. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.01.598>
- Lettre, G., Lange, C., & Hirschhorn, J. N. (2007). Genetic Model Testing and Statistical Power in Population-Based Association Studies of Quantitative Traits. *Genetic Epidemiology*, 31, 358–362. <https://doi.org/10.1002/gepi.20217>
- Lewis, C. M. (2002). Genetic association studies: design, analysis and interpretation. *Briefings in Bioinformatics*, 3(2), 146–153.
- Li, L., Tian, Y., Lv, X., Yu, H., Xie, Y., Wang, J., & Shi, W. (2015). Association analysis of IL-17A and IL-17F polymorphisms in Chinese women with cervical cancer. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 12178–12183. <https://doi.org/10.4238/2015.October.9.6>
- Li, Linhai, Li, Y., Huang, Y., Ouyang, Y., Zhu, Y., Wang, Y., ... Gong, K. (2018). Long non-coding RNA MIF-AS1 promotes gastric cancer cell proliferation and reduces apoptosis to upregulate NDUFA4. *Cancer Science*, 109(12), 3714–3725. <https://doi.org/10.1111/cas.13801>
- Li, N., Zhu, Q., Li, Z., Han, Q., Zhang, G., Chen, J., ... Liu, Z. (2014). IL17A gene polymorphisms, serum IL-17A and IgE levels, and hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Molecular Carcinogenesis*, 53(6), 447–457. <https://doi.org/10.1002/mc.21992>
- Li, Q., Wang, J.-M., Peng, Y., Zhang, S.-H., Ren, T., Luo, H., ... Wang, D. (2013). Association of DNA base-excision repair XRCC1, OGG1 and APE1 gene polymorphisms with nasopharyngeal carcinoma susceptibility in a Chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(9), 5145–5151. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.9.5145>
- Li, X., Yin, G., Li, J., Wu, A., Yuan, Z., Liang, J., & Sun, Q. (2018). The correlation between TNF- α promoter gene polymorphism and genetic susceptibility to cervical cancer. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 17, 1–7. <https://doi.org/10.1177/1533033818782793>

- Liao, H., Zhang, L., Cheng, P., Pu, Y., Wu, Y., Li, Z., ... Yang, S. (2014). Insertion/deletion polymorphism of IL1A 3'-UTR associated with the susceptibility of prostate cancer. *Journal of Sichuan University. Medical Science Edition*, 45(6), 956–959.
- Lindén, A. (2001). Role of Interleukin-17 and the Neutrophil in Asthma. *International Archives of Allergy and Immunology*, 126(3), 179–184. <https://doi.org/10.1159/000049511>
- Liu, Jie, Song, B., Bai, X., Liu, W., Li, Z., Wang, J., ... Wang, Z. (2010). Association of genetic polymorphisms in the interleukin-10 promoter with risk of prostate cancer in Chinese. *BMC Cancer*, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-456>
- Liu, Jiyong, Zhai, X., Jin, G., Hu, Z., Wang, S., Wang, X., ... Shen, H. (2006). Functional variants in the promoter of interleukin-1 β are associated with an increased risk of breast cancer: A case-control analysis in a Chinese population. *International Journal of Cancer*, 118(10), 2554–2558. <https://doi.org/10.1002/ijc.21652>
- Liu, JM, Liu, J., Wei, M., He, Y., Zhou, Y., Song, X., ... Huang, J. (2013). Effect of IL-18 gene promoter polymorphisms on prostate cancer occurrence and prognosis in Han Chinese population. *Genetics and Molecular Research*, 12(1), 820–829. <https://doi.org/10.4238/2013.March.15.2>
- Liu, Q., Russell, M. R., Shahriari, K., Jernigan, D. L., Lioni, M. I., Garcia, F. U., & Fatatis, A. (2013). Interleukin-1 β promotes skeletal colonization and progression of metastatic prostate cancer cells with neuroendocrine features. *Cancer Research*, 73(11), 3297–3305. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3970>
- Liu, Yanbo, Zhao, X., Sun, X., Li, Y., Wang, Z., Jiang, J., ... Sun, Y. (2015). Expression of IL-17A, E, and F and their receptors in human prostatic cancer: Comparison with benign prostatic hyperplasia. *Prostate*, 75, 1844–1856. <https://doi.org/10.1002/pros.23058>
- Liu, Yunguang, Lin, N., Huang, L., Xu, Q., & Pang, G. (2007). Genetic Polymorphisms of the Interleukin-18 Gene and Risk of Prostate Cancer. *DNA and Cell Biology*, 26(8), 613–618. <https://doi.org/10.1089/dna.2007.0600>
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., ... Scott, M. P. (2016). *Biología celular y molecular* (7th ed.). Madrid: Médica Panamericana.
- López-Abente, G., Núñez, O., Pérez-Gómez, B., Aragonés, N., & Pollán, M. (2015). La situación del cáncer en España: Informe 2015. (I. de S. C. III, Ed.). Madrid: Instituto de Salud Carlos III.
- Lozano-Teruel, J. A. (1995). *Bioquímica para ciencias de la salud* (1ª). Madrid: McGraw-Hill-Interamericana.
- Lu, W., Pan, K., Zhang, L., Lin, D., Miao, X., & You, W. (2005). Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, 1L-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor α and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis*, 26(3), 631–636. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh349>

- Luo, H., Li, Z., Qing, Y., Zhang, S.-H., Peng, Y., Li, Q., & Wang, D. (2014). Single nucleotide polymorphisms of DNA base-excision repair genes (APE1, OGG1 and XRCC1) associated with breast cancer risk in a Chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(3), 1133–1140. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.3.1133>
- Lv, Q., Zhu, D., Zhang, J., Yi, Y., Yang, S., & Zhang, W. (2015). Association between six genetic variants of IL-17A and IL-17F and cervical cancer risk: a case–control study. *Tumor Biology*, 36(5), 3979–3984. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3041-y>
- Machado, Jose Carlos, Figueiredo, C., Canedo, P., Pharoah, P., Carvalho, R., Nabais, S., ... Sobrinho-Simões, M. (2003). A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology*, 125(2), 364–371. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00899-0](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00899-0)
- Machado, José Carlos, Pharoah, P., Sousa, S., Carvalho, R., Oliveira, C., Figueiredo, C., ... Sobrinho-Simões, M. (2001). Interleukin 1B and interleukin 1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma. *Gastroenterology*, 121(4), 823–829. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.28000>
- Manandhar, M., Boulware, K. S., & Wood, R. D. (2015). The ERCC1 and ERCC4 (XPF) genes and gene products. *Gene*, 569(2), 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.06.026>
- Mandal, S., Abebe, F., & Chaudhary, J. (2014). -174G/C polymorphism in the interleukin-6 promoter is differently associated with cancer incidence depending on race. *Genetics and Molecular Research*, 13(1), 139–151. <https://doi.org/10.4238/2013.January.10.5>
- Mantel, N., & Haenszel, W. (1959). Statistical Aspects of the Analysis of Data From Retrospective Studies of Disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 22(4), 719–748. <https://doi.org/10.1093/jnci/22.4.719>
- Margni, R. A. (1996). *Inmunología e Inmunoquímica. Fundamentos*. (5th ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Martinon, F., Burns, K., & Tschopp, J. (2002). The Inflammasome: A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Molecular Cell*, 10(2), 417–426. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00599-3](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00599-3)
- Más que salud. (2018). Retrieved September 17, 2019, from <https://www.masquesalud.es/resum-vapor-de-agua-reducir-hiperplasia-benigna-prostata/>
- Matsuda, M., Salazar, F., Petersson, M., Masucci, G., Hansson, J., Pisa, P., ... Kiessling, R. (1994). Interleukin 10 pretreatment protects target cells from tumor- and allo-specific cytotoxic T cells and downregulates HLA class I expression. *Journal of Experimental Medicine*, 180(6), 2371–2376. <https://doi.org/10.1084/jem.180.6.2371>
- McCarron, S. L., Edwards, S., Evans, P. R., Gibbs, R., Dearnaley, D. P., Dowe, A., ... Howell, W. M. (2002). Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Research*, 62(12), 3369–3372.

- Meyer-Siegler, K. L., Iczkowski, K. A., & Vera, P. L. (2005). Further evidence for increased macrophage migration inhibitory factor expression in prostate cancer. *BMC Cancer*, 5(1), 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-5-73>
- Meyer-Siegler, Katherine. (2001). COX-2 specific inhibitor, NS-398, increases macrophage migration inhibitory factor expression and induces neuroendocrine differentiation in C4-2b prostate cancer cells. *Molecular Medicine*, 7(12), 850–860.
- Meyer-Siegler, Katherine, & Hudson, P. B. (1996). Enhanced expression of macrophage migration inhibitory factor in prostatic adenocarcinoma metastases. *Urology*, 48(3), 448–452. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(96\)00207-5](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(96)00207-5)
- Meyer-Siegler, KL, Vera, P., Iczkowski, K., Bifulco, C., Lee, A., Gregersen, P., ... Bucala, R. (2007). Macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene polymorphisms are associated with increased prostate cancer incidence. *Genes and Immunity*, 8, 646–652. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364427>
- Michaud, D. S., Daugherty, S. E., Berndt, S. I., Platz, E. A., Yeager, M., Crawford, E. D., ... Hayes, R. B. (2006). Genetic polymorphisms of interleukin-1B (IL-1B), IL-6, IL-8, and IL-10 and risk of prostate cancer. *Cancer Research*, 66(8), 4525–4530. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3987>
- Miettinen, O. (1976). Estimability and estimation in case-referent studies. *American Journal of Epidemiology*, 103(2), 226–235. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112220>
- Miller, S., Dykes, D., & Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16(3), 1215. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-7152-1.50011-4>
- Milne, R. L., Ribas, G., González-Neira, A., Fagerholm, R., Salas, A., González, E., ... Benítez, J. (2006). ERCC4 associated with breast cancer risk: A two-stage case-control study using high-throughput genotyping. *Cancer Research*, 66(19), 9420–9427. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-1418>
- Miteva, L. D., Stanilov, N. S., Deliysky, T. S., & Stanilova, S. A. (2014). Significance of –1082A/G polymorphism of IL10 gene for progression of colorectal cancer and IL-10 expression. *Tumor Biology*, 35(12), 12655–12664. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2589-2>
- Mittal, R. D., Mandal, R. K., & Gangwar, R. (2012). Base excision repair pathway genes polymorphism in prostate and bladder cancer risk in North Indian population. *Mechanisms of Ageing and Development*, 133(4), 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2011.10.002>
- Mocellin, S., Marincola, F. M., & Young, H. A. (2005). Interleukin-10 and the immune response against cancer: a counterpoint. *Journal of Leukocyte Biology*, 78(5), 1043–1051. <https://doi.org/10.1189/jlb.0705358>
- Moore, K., Malefyt, R. de W., Coffman, R., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the Interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology*, 19(1), 683–765. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>

- Moseley, T., Haudenschild, D., Rose, L., & Reddi, A. (2003). Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 14(2), 155–174. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(03\)00002-9](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(03)00002-9)
- Multhoff, G., Molls, M., & Radons, J. (2012). Chronic inflammation in cancer development. *Frontiers in Immunology*, 2(JAN), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2011.00098>
- Muramaki, M., Miyake, H., Yamada, Y., & Hara, I. (2006). Clinical utility of serum macrophage migration inhibitory factor in men with prostate cancer as a novel biomarker of detection and disease progression. *Oncology Reports*, 15(1), 253–257.
- Murugaiyan, G., & Saha, B. (2009). Protumor vs Antitumor Functions of IL-17. *The Journal of Immunology*, 183(7), 4169–4175. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901017>
- Nakanishi, K., Yoshimoto, T., Tsutsui, H., & Okamura, H. (2001). Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 12(1), 53–72. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(00\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(00)00015-0)
- National Cancer Institute. (2019a). Cáncer en español - National Cancer Institute. Retrieved July 4, 2019, from <https://www.cancer.gov/espanol>
- National Cancer Institute. (2019b). Definition of pack year - NCI Dictionary of Cancer Terms. Retrieved July 9, 2019, from <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/pack-year>
- NCBI. (2019a). rs2070767 RefSNP Report - dbSNP - NCBI. Retrieved August 24, 2019, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2070767>
- NCBI. (2019b). TNF tumor necrosis factor. Retrieved September 9, 2019, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7124>
- Nei, M., & Roychoudhury, A. (1974). Sampling Variances of Heterozygosity and Genetic Distance. *Genetics*, 76, 379–390.
- Nemati, K., Golmoghaddam, H., Hosseini, S. V., Ghaderi, A., & Doroudchi, M. (2015). Interleukin-17FT7488 allele is associated with a decreased risk of colorectal cancer and tumor progression. *Gene*, 561(1), 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.02.014>
- Nguyen, D. P., Li, J., & Tewari, A. K. (2014). Inflammation and prostate cancer: The role of interleukin 6 (IL-6). *BJU International*, 113(6), 986–992. <https://doi.org/10.1111/bju.12452>
- Nishihira, J., & Sakaue, S. (2012). Overview of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as a potential biomarker relevant to adiposity. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2(3), 186–191. [https://doi.org/10.1016/S2225-4110\(16\)30098-0](https://doi.org/10.1016/S2225-4110(16)30098-0)
- Nogueira de Souza, N., Brenna, S., Campos, F., Syrjänen, K., Baracat, E., & Silva, I. (2006). Interleukin-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, 16(3), 1278–1282.

- Nong, L.-G., Luo, B., Zhang, L., & Nong, H.-B. (2009). Interleukin-18 Gene Promoter Polymorphism and the Risk of Nasopharyngeal Carcinoma in a Chinese Population. *DNA and Cell Biology*, 28(10), 507–513. <https://doi.org/10.1089/dna.2009.0912>
- Norjmaa, B., Tulgaa, K., & Saitoh, T. (2016). Base Excision Repair Pathway and Polymorphisms of XRCC1 Gene. *Journal of MPE Molecular Pathological Epidemiology*, 1(1), 1–5.
- Oduor, C. I., Chelimo, K., Ouma, C., Mulama, D. H., Foley, J., Vulule, J., ... Moormann, A. M. (2014). Interleukin-6 and interleukin-10 gene promoter polymorphisms and risk of endemic burkitt lymphoma. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(3), 649–654. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0616>
- Oeth, P., Beaulieu, M., Park, C., Kosman, D., del Mistro, G., van Den Boom, D., & Jurinke, C. (2005). iPLEX™ Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators. *Sequenom Application Note*, 27, 8876–9006.
- Ognjanovic, S., Yamamoto, J., Saltzman, B., Franke, A., Ognjanovic, M., Yokochi, L., ... Le Marchand, L. (2010). Serum CRP and IL-6, genetic variants and risk of colorectal adenoma in a multiethnic population. *Cancer Causes and Control*, 21(7), 1131–1138. <https://doi.org/10.1007/s10552-010-9540-7>
- Ognjanovic, S., Yuan, J.-M., Chaptman, A. K., Fan, Y., & Yu, M. C. (2009). Genetic polymorphisms in the cytokine genes and risk of hepatocellular carcinoma in low-risk non-Asians of USA. *Carcinogenesis*, 30(5), 758–762. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn286>
- Ohnishi, S., Ma, N., Thanan, R., Pinlaor, S., Hammam, O., Murata, M., & Kawanishi, S. (2013). DNA damage in inflammation-related carcinogenesis and cancer stem cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/387014>
- Okamura, H., Tsutsul, H., Komatsu, T., Yutsudo, M., Hakura, A., Tanimoto, T., ... Kurimoto, M. (1995). Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells. *Nature*, 378(6552), 88. <https://doi.org/10.1038/378088a0>
- Omrane, I., Marrakchi, R., Baroudi, O., Mezlini, A., Ayari, H., Medimegh, I., ... Benammar-Elgaai, A. (2014). Significant association between interleukin-17A polymorphism and colorectal cancer. *Tumor Biology*, 35(7), 6627–6632. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1890-4>
- Ormachea-Salcedo, P., Sánchez-Enríquez, R., Callisaya-Huahuamullo, J., & Salcedo-Ortiz, L. (2011). Utilidad del PSA (Antígeno Prostático Específico) total como método de tamizaje para diagnóstico de hipertrofia de próstata y cáncer prostático, Hospital Obrero N° 1, febrero-mayo del 2009 , Bolivia. *Biofarbo*, 19(2), 39–44.
- Osaki, T., Péron, J.-M., Cai, Q., Okamura, H., Robbins, P. D., Kurimoto, M., ... Tahara, H. (1998). IFN-gamma-Inducing Factor/IL-18 Administration Mediates IFN-gamma- and IL-12-Independent Antitumor Effects. *The Journal of Immunology*, 160, 1742–1749.

- Ouyang, W., Kolls, J. K., & Zheng, Y. (2008). The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity*, 28(4), 454–467. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.03.004>
- Pálmai-Pallag, T., & Bachrati, C. Z. (2014). Inflammation-induced DNA damage and damage-induced inflammation: A vicious cycle. *Microbes and Infection*, 16(10), 822–832. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2014.10.001>
- Pan, H.-Z., Liang, J., Yu, Z., Lun, L.-M., Li, H., & Wang, Q. (2011). Polymorphism of DNA repair gene XRCC1 and hepatocellular carcinoma risk in Chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12(11), 2947–2950.
- Pappu, R., Ramirez-Carrozzi, V., & Sambandam, A. (2011). The interleukin-17 cytokine family: critical players in host defence and inflammatory diseases. *Immunology*, 134(1), 8–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03465.x>
- Park, C. C., Morel, J. C., Amin, M. A., Connors, M. A., Harlow, L. A., & Koch, A. E. (2001). Evidence of IL-18 as a Novel Angiogenic Mediator. *The Journal of Immunology*, 167(3), 1644–1653. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.3.1644>
- Park, H., Byun, D., Kim, T. S., Kim, Y. I., Kang, J. S., Hahm, E. S., ... Cho, D. H. (2001). Enhanced IL-18 expression in common skin tumors. *Immunology Letters*, 79(3), 215–219. [https://doi.org/10.1016/S0165-2478\(01\)00278-4](https://doi.org/10.1016/S0165-2478(01)00278-4)
- Park, K., Mok, J., Ko, H., Tokunaga, K., & Lee, M. (2002). Polymorphisms of tumour necrosis factors A and B in breast cancer. *European Journal of Immunogenetics*, 29(1), 7–10. <https://doi.org/10.1046/j.0960-7420.2001.00260.x>
- Park, S., Cheon, S., & Cho, D. (2007). The dual effects of interleukin-18 in tumor progression. *Cellular & Molecular Immunology*, 4(5), 329–335.
- Pedrosa, J. A. (2019). Tamanho normal da próstata - Saiba mais sobre o aumento prostático. Retrieved September 17, 2019, from <https://www.drjappedrosa.com/qual-tamanho-normal-da-prostata/>
- Perri, F., Piepoli, A., Bonvicini, C., Gentile, A., Quitadamo, M., Di Candia, M., ... Andriulli, A. (2005). Cytokine gene polymorphisms in gastric cancer patients from two Italian areas at high and low cancer prevalence. *Cytokine*, 30(5), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2005.01.011>
- Pestka, S., Krause, C., Sarkar, D., Walter, M., Shi, Y., & Fisher, P. (2004). Interleukin-10 and Related Cytokines and Receptors. *Annual Review of Immunology*, 22(1), 929–979. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104622>
- Piedrola Gil, G. (2001). *Medicina preventiva y salud pública* (10th ed.). Barcelona: Masson.
- Pita-Fernández, S., & Pértegas-Díaz, S. (2003). Metodología de la Investigación: Pruebas diagnósticas. *Cadernos de Atención Primaria*, 10, 120–124. Retrieved from http://www.fisterra.com/material/investiga/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.pdf

- Pociot, F., Mølviq, J., Wogensén, L., Worsaae, H., & Nerup, J. (1992). A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *European Journal of Clinical Investigation*, 22(6), 396–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1992.tb01480.x>
- Pohjanen, V.-M., Koivurova, O.-P., Mäkinen, J. M., Karhukorpi, J. M., Joensuu, T., Koistinen, P. O., ... Karttunen, T. J. (2013). Interleukin 6 gene polymorphism -174 is associated with diffuse type gastric carcinoma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 52, 976–982. <https://doi.org/10.1002/gcc.22093>
- Pooja, S., Chaudhary, P., Nayak, L. V, Rajender, S., Saini, K. S., Deol, D., ... Konwar, R. (2012). Polymorphic variations in IL-1 β , IL-6 and IL-10 genes, their circulating serum levels and breast cancer risk in Indian women. *Cytokine*, 60(1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.06.241>
- Pratesi, C., Bortolin, M. T., Bidoli, E., Tedeschi, R., Vaccher, E., Dolcetti, R., ... De Paoli, P. (2006). Interleukin-10 and interleukin-18 promoter polymorphisms in an Italian cohort of patients with undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 55(1), 23–30. <https://doi.org/10.1007/s00262-005-0688-z>
- Prignot, J. (1987). Quantification and chemical markers of tobacco-exposure. *European Journal of Respiratory Diseases*, 70(1), 1–7.
- Pu, X., Gu, Z., & Wang, X. (2016). Polymorphisms of the interleukin 6 gene and additional gene–gene interaction contribute to cervical cancer susceptibility in Eastern Chinese women. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 294(6), 1305–1310. <https://doi.org/10.1007/s00404-016-4175-x>
- Pu, Y., Zhang, Z., Zhou, B., Chen, P., Zhang, K., Song, Y., ... Zhang, L. (2014). Association of an insertion/deletion polymorphism in IL1A 3'-UTR with risk for cervical carcinoma in Chinese Han Women. *Human Immunology*, 75(8), 740–744. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2014.05.004>
- QIAGEN. (2013). QIAGEN - GeneGlobe Pathways - IL-6 Pathway. Retrieved August 21, 2019, from <https://www.qiagen.com/dk/shop/genes-and-pathways/pathway-details?pwid=244>
- QIAGEN. (2017). QIAGEN - GeneGlobe Pathways - Cytokine Network. Retrieved August 21, 2017, from <https://www.qiagen.com/dk/shop/genes-and-pathways/pathway-details?pwid=130>
- Qidwai, T., & Khan, F. (2011). Tumour Necrosis Factor Gene Polymorphism and Disease Prevalence. *Scandinavian Journal of Immunology*, 74(6), 522–547. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02602.x>
- Qinghai, Z., Yanying, W., Yunfang, C., Xukui, Z., & Xiaoqiao, Z. (2014). Effect of interleukin-17A and interleukin-17F gene polymorphisms on the risk of gastric cancer in a Chinese population. *Gene*, 537(2), 328–332. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.11.007>

- Quan, Y., Zhou, B., Wang, Y., Duan, R., Wang, K., Gao, Q., ... Xi, M. (2012). Association between IL17 polymorphisms and risk of cervical cancer in chinese women. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/258293>
- Radboud, U. (2019). MALDI-TOF - General Instrumentation. Retrieved July 4, 2019, from <https://www.ru.nl/science/gi/facilities-activities/other-devices/maldi-tof/>
- Rafiei, A., Hosseini, V., Janbabai, G., Ghorbani, A., Ajami, A., Farzmandfar, T., ... Merrell, D. S. (2013). Polymorphism in the interleukin-17A promoter contributes to gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 19(34), 5693–5699. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i34.5693>
- Razzaghi, M. R., Mazloomfard, M. M., Malekian, S., & Razzaghi, Z. (2019). Association of Macrophage Inhibitory Factor 173-Gene Polymorphism with Biological Behavior of Prostate Cancer. *Urological Journal*, 16(1), 32–36.
- REDECAN - Red Española de Registros de Cáncer. (2019). Retrieved September 19, 2019, from <http://redcan.org/es/index.cfm>
- Regueiro, J. R., López, C., González, S., & Martínez, E. (2011). *Inmunología: biología y patología del sistema inmunitario* (4th ed.). Madrid: Médica Panamericana DL. Retrieved from <https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/4238/Inmunologia.html>
- ResearchGate. (2019). Retrieved September 18, 2019, from <https://www.researchgate.net/>
- Ritchey, J. D., Huang, W.-Y., Chokkalingam, A. P., Gao, Y.-T., Deng, J., Levine, P., ... Hsing, A. W. (2005). Genetic variants of DNA repair genes and prostate cancer: A population-based study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 14(7), 1703–1709. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0809>
- Rodríguez-López, M. R., Baluja-Conde, I. B., & Bermúdez-Velásquez, S. (2007). Patologías benignas de la próstata: prostatitis e hiperplasia benigna. *Revista Biomédica*, 18(1), 47–59.
- Roerink, M. E., van der Schaaf, M. E., Dinarello, C. A., Knoop, H., & van der Meer, J. W. (2017). Interleukin-1 as a mediator of fatigue in disease: A narrative review. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0796-7>
- Rogus, J., Beck, J. D., Offenbacher, S., Huttner, K., Iacoviello, L., Latella, M. C., ... Duff, G. W. (2008). IL1B gene promoter haplotype pairs predict clinical levels of interleukin-1 β and C-reactive protein. *Human Genetics*, 123(4), 387–398. <https://doi.org/10.1007/s00439-008-0488-6>
- Rook, G. A., & Dalgleish, A. (2011). Infection, immunoregulation, and cancer. *Immunological Reviews*, 240(1), 141–159. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00987.x>
- Ross, M., & Pawlina, W. (2013). *Histología. Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*. (6th ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.

- Rothman, N., Skibola, C. F., Wang, S. S., Morgan, G., Lan, Q., Smith, M. T., ... Nieters, A. (2006). Genetic variation in TNF and IL10 and risk of non-Hodgkin lymphoma: A report from the InterLymph Consortium. *Lancet Oncology*, 7(1), 27–38. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(05\)70434-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(05)70434-4)
- Royuela, M., Rodríguez-Berriguete, G., Fraile, B., & Paniagua, R. (2008). TNF-alpha/IL-1/NF-kappaB transduction pathway in human cancer prostate. *Histology and Histopathology*, 23(10), 1279–12790. <https://doi.org/10.14670/HH-23.1279>
- Rybicki, B. A., Conti, D. V., Moreira, A., Cicek, M., Casey, G., & Witte, J. S. (2004). DNA Repair Gene XRCC1 and XPD Polymorphisms and Risk of Prostate Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 13(1), 23–29. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-03-0053>
- Ryu, R. A., Tae, K., Min, H. J., Jeong, J. H., Cho, S. H., Lee, S. H., & Ahn, Y. H. (2011). XRCC1 polymorphisms and risk of papillary thyroid carcinoma in a Korean sample. *Journal of Korean Medical Science*, 26(8), 991–995. <https://doi.org/10.3346/jkms.2011.26.8.991>
- Sa-Nguanraksa, D., Suntiparpluacha, M., Kulprom, A., Kummalue, T., Chuangsuwanich, T., Avirutnan, P., & O-Charoenrat, P. (2016). Association of estrogen receptor alpha and interleukin 6 polymorphisms with lymphovascular invasion, extranodal extension, and lower disease-free survival in thai breast cancer patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(6), 2935–2940.
- Saadat, M., & Ansari-Lari, M. (2009). Polymorphism of XRCC1 (at codon 399) and susceptibility to breast cancer, a meta-analysis of the literatures. *Breast Cancer Research and Treatment*, 115(1), 137–144. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-0051-0>
- Saavedra-Ramírez, P. G., Vásquez-Duque, G. M., & González-Naranjo, L. A. (2011). Interleukin-6: Friend or foe? Basis to understand its utility as a therapeutic target. *Iatreia*, 24(2), 157–166.
- Sabio, G., & Davis, R. J. (2014). TNF and MAP kinase signaling pathways. *Seminars in Immunology*, 26(3), 237–245. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.02.009>
- Sackett, D., Deeks, J., & Atman, D. (1996). Down with Odds Ratios! *Evidence-Based Medicine*, 1(6), 164–166.
- Sáenz-López, P., Carretero, R., Vazquez, F., Martin, J., Sánchez, E., Tallada, M., ... Ruiz-Cabello, F. (2010). Impact of interleukin-18 polymorphisms-607 and -137 on clinical characteristics of renal cell carcinoma patients. *Human Immunology*, 71(3), 309–313. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.11.010>
- Saikia, B. J., Phukan, R. K., Sharma, S. K., Sekhon, S. K., & Mahanta, J. (2014). Interaction of XRCC1 and XPD gene polymorphisms with lifestyle and environmental factors regarding susceptibility to lung cancer in a high incidence population in North East India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(5), 1993–1999. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.5.1993>

- Sakamoto, T., Higaki, Y., Hara, M., Ichiba, M., Horita, M., Mizuta, T., ... Tanaka, K. (2008). Interaction between interleukin-1 β -31T/C gene polymorphism and drinking and smoking habits on the risk of hepatocellular carcinoma among Japanese. *Cancer Letters*, 271(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.05.036>
- Sambrook, J., Fritsch, E., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. (2nd ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sanz-Ortiz, J. (2006). *Cáncer: Del Gen al sentido de la vida* (1st ed.). Madrid: SA, EGRAF.
- Schindler, R., Mancilla, J., Endres, S., Ghorbani, R., Clark, S. C., & Dinarello, C. A. (1990). Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*, 75(1), 40–47.
- Sfanos, K. S., & De Marzo, A. M. (2012). Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*, 60(1), 199–215. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.04033.x>.
- Shen, C., Sun, H., Sun, D., Xu, L., Zhang, X., Liu, A., ... Fu, S. (2011). Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and breast cancer risk: A meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 126(3), 763–770. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1184-5>
- Shen, H., Xu, Y., Qian, Y., Yu, R., Qin, Y., Zhou, L., ... Wei, Q. (2000). Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and risk of gastric cancer in a Chinese population. *International Journal of Cancer*, 88(4), 601–606. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(20001115\)88:4<601::AID-IJC13>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-0215(20001115)88:4<601::AID-IJC13>3.0.CO;2-C)
- Sherry, S., Ward, M.-H., Kholodov, M., Baker, J., Phan, L., Smigieslki, E., & Sirotkin, K. (2001). dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Research*, 29(1), 308–311.
- Shi, T.-Y., He, J., Qiu, L.-X., Zhu, M.-L., Wang, M.-Y., Zhou, X.-Y., ... Wei, Q. (2012). Association between XPF polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis. *PLoS ONE*, 7(7), e38606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038606>
- Shi, W.-J., Liu, H., Wu, D., Tang, Z.-H., Shen, Y.-C., & Guo, L. (2014). Stratification analysis and case-control study of relationships between interleukin-6 gene polymorphisms and cervical cancer risk in a Chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(17), 7357–7362. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.17.7357>
- Shibata, T., Tahara, T., Hirata, I., & Arisawa, T. (2009). Genetic polymorphism of interleukin-17A and -17F genes in gastric carcinogenesis. *Human Immunology*, 70(7), 547–551. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.04.030>
- Shin, S. P., Kim, N. K., Kim, J. H., Lee, J. H., Kim, J. O., Cho, S. H., ... Hwang, S. G. (2015). Association between hepatocellular carcinoma and tumor necrosis factor alpha polymorphisms in South Korea. *World Journal of Gastroenterology*, 21(46), 13064–13072. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i46.13064>

- Sidak, Z. (1967). Rectangular Confidence Regions for the Means of Multivariate Normal Distributions. *Journal of the American Statistical Association*, 62(318), 626–633. <https://doi.org/10.2307/2283989>
- Singh, P. K., Ahmad, M. K., Kumar, V., Hussain, S. R., Gupta, R., Jain, A., ... Chandra, G. (2014). Effects of interleukin-18 promoter (C607A and G137C) gene polymorphisms and their association with oral squamous cell carcinoma (OSCC) in northern India. *Tumor Biology*, 35(12), 12275–12284. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2538-0>
- Slattery, M. L., Curtin, K., Baumgartner, R., Sweeney, C., Byers, T., Giuliano, A. R., ... Wolff, R. R. (2007). IL6, aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and breast cancer risk in women living in the southwestern United States. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 16(4), 747–755. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0667>
- Slattery, M. L., Wolff, R. K., Herrick, J. S., Caan, B. J., & Potter, J. D. (2007). IL6 genotypes and colon and rectal cancer. *Cancer Causes and Control*, 18(10), 1095–1105.
- Smith, K., Bateman, A., Fussell, H., & Howell, W. (2004). Cytokine gene polymorphisms and breast cancer susceptibility and prognosis. *European Journal of Immunogenetics*, 31(4), 167–173. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2370.2004.00462.x>
- Snoussi, K., Strosberg, A. D., Bouaouina, N., Ahmed, S. Ben, & Chouchane, L. (2005). Genetic variation in pro-inflammatory cytokines (interleukin-1 β , interleukin-1 α and interleukin-6) associated with the aggressive forms, survival, and relapse prediction of breast carcinoma. *European Cytokine Network*, 16(4), 253–260.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1969). *The Principles and Practice of Statistics in Biological Research* (1st ed.). San Francisco: WH Freeman.
- Solari, A. J. (2011). *Genética humana: fundamentos y aplicaciones en medicina* (4th ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana DL.
- Sorour, A. F., Talaat, I. M., Youssif, T. M. A., & Atta, M. A. (2013). Detection of Polymorphisms of DNA Repair Genes (XRCC1 and XPC) in Prostate Cancer. *Journal of Cancer Therapy*, 4(10), 1499–1505. <https://doi.org/10.4236/jct.2013.410181>
- Steiner, G. E., Newman, M. E., Paikl, D., Stix, U., Memaran-Dagda, N., Lee, C., & Marberger, M. J. (2003). Expression and function of pro-inflammatory interleukin IL-17 and IL-17 receptor in normal, benign hyperplastic, and malignant prostate. *Prostate*, 56(3), 171–182. <https://doi.org/10.1002/pros.10238>
- Sugimoto, M., Furuta, T., Shirai, N., Nakamura, A., Xiao, F., Kajimura, M., ... Hishida, A. (2007). Different effects of polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta on development of peptic ulcer and gastric cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 22(1), 51–59. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2006.04442.x>
- Sultana, Z., Bankura, B., Pattanayak, A. K., Sengupta, D., Sengupta, M., Saha, M. L., ... Das, M. (2018). Association of Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha genetic polymorphisms with gastric cancer in India. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 59(7), 653–667. <https://doi.org/10.1002/em.22208>

- Sun, L., Wang, X., & Huang, X. (2015). Association analysis of rs2275913G>A and rs763780T>C interleukin 17 polymorphisms in Chinese women with cervical cancer. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 13612–13617. <https://doi.org/10.4238/2015.October.28.22>
- Surovtseva, M., Vainer, A., Berezina, O., Ovchinnikov, V., Voropaeva, E., Pospelova, T., & Filipenko, M. (2014). Analysis of the association of polymorphic loci rs917997 in IL18RAP gene and rs187238 in IL18 gene with the risk for non-Hodgkin's malignant lymphomas in Novosibirsk population. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 157(1), 66–69. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2493-1>
- Świerczewska, M., Ostalska-Nowicka, D., Kempisty, B., Szczepankiewicz, A., & Nowicki, M. (2014). Polymorphic variants of MIF gene and prognosis in steroid therapy in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Acta Biochimica Polonica*, 61(1), 67–75.
- Takanami, T., Nakamura, J., Kubota, Y., & Horiuchi, S. (2005). The Arg280His polymorphism in X-ray repair cross-complementing gene 1 impairs DNA repair ability. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 582(1–2), 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.01.007>
- Talaat, R. M., Abdel-Aziz, A. M., El-Maadawy, E. A., & Abdel-Bary, N. (2015). CD38 and interleukin 6 gene polymorphism in Egyptians with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Immunological Investigations*, 44(3), 265–278. <https://doi.org/10.3109/08820139.2014.989328>
- Taverna, G., Pedretti, E., Di Caro, G., Borroni, E. M., Marchesi, F., & Grizzi, F. (2015). Inflammation and prostate cancer: friends or foe? *Inflammation Research*, 64(5), 275–286. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0812-2>
- Terry, C. F., Loukaci, V., & Green, F. R. (2000). Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(24), 18138–18144. <https://doi.org/10.1074/jbc.M000379200>
- The 1000 Genomes Project Consortium. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526(7571), 68–74. <https://doi.org/10.1038/nature15393>.
- The 1000 Genomes Project Consortium. (2019). 1000 Genomes browser: rs2070767 (SNP). Retrieved August 24, 2019, from http://phase3browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=22:24236963-24237963;v=rs2070767;vdb=variation;vf=1473461
- Theodoropoulos, G., Papaconstantinou, I., Felekouras, E., Nikiteas, N., Karakitsos, P., Panoussopoulos, D., ... Gazouli, M. (2006). Relation between common polymorphisms in genes related to inflammatory response and colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 12(31), 5037–5043. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i31.5037>
- Tindall, E. A., Hayes, V. M., & Petersen, D. C. (2010). Inflammatory genetic markers of prostate cancer Risk. *Cancers*, 2(2), 1198–1220. <https://doi.org/10.3390/cancers2021198>

- Tindall, E. A., Severi, G., Hoang, H. N., Southey, M. C., English, D. R., Hopper, J. L., ... BioResource, A. P. C. (2012). Interleukin-6 promoter variants, prostate cancer risk, and survival. *Prostate*, 72(16), 1701–1707. <https://doi.org/10.1002/pros.22557>
- Tisell, L., & Salander, H. (1984). Anatomy of the human prostate and its three paired lobes. *Progress in Clinical and Biological Research*, 145, 55–65.
- Tomura, M., Zhou, X., Maruo, S., Ahn, H., Hamaoka, T., Okamura, H., ... Fujiwara, H. (1998). A critical role for IL-18 in the proliferation and activation of NK1.1+ CD3- cells. *The Journal of Immunology*, 160(10), 4738–4746.
- Torrealba, N., Rodríguez-Berriguete, G., Fraile, B., Olmedilla, G., Martínez-Onsurbe, P., Guil-Cid, M., ... Royuela, M. (2017). Expression of several cytokines in prostate cancer: Correlation with clinical variables of patients. Relationship with biochemical progression of the malignance. *Cytokine*, 89, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.08.008>
- Totaro, F., Cimmino, F., Pignataro, P., Acierno, G., De Mariano, M., Longo, L., ... Capasso, M. (2013). Impact of Interleukin-6 -174 G>C Gene Promoter Polymorphism on Neuroblastoma. *PLoS ONE*, 8(10), e76810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076810>
- Trifunovic, J., Miller, L., Debeljak, Z., & Horvat, V. (2015). Pathologic patterns of interleukin 10 expression – A review. *Biochemia Medica*, 25(1), 36–48. <https://doi.org/10.11613/BM.2015.004>
- Tsai, H.-T., Hsin, C.-H., Hsieh, Y.-H., Tang, C.-H., Yang, S.-F., Lin, C.-W., & Chen, M.-K. (2013). Impact of interleukin-18 polymorphisms -607A/C and -137G/C on oral cancer occurrence and clinical progression. *PLoS ONE*, 8(12), e83572. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083572>
- Tsilidis, K. K., Helzlsouer, K. J., Smith, M. W., Grinberg, V., Hoffman-Bolton, J., Clipp, S. L., ... Platz, E. A. (2009). Association of common polymorphisms in IL10, and in other genes related to inflammatory response and obesity with colorectal cancer. *Cancer Causes and Control*, 20(9), 1739–1751. <https://doi.org/10.1007/s10552-009-9427-7>.Association
- Turner, D., Williams, D., Sankaran, D., Lazarus, M., Sinnott, P., & Hutchinson, I. (1997). An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *European Journal of Immunogenetics*, 24(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2370.1997.tb00001.x>
- Upadhyay, R., Jain, M., Kumar, S., Ghoshal, U. C., & Mittal, B. (2008). Association of interleukin-6 (- 174G>C) promoter polymorphism with risk of squamous cell esophageal cancer and tumor location: An exploratory study. *Clinical Immunology*, 128(2), 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2008.03.519>
- Uribe-Arcila, J. F. (2005). *Cáncer de Próstata. ¿Por qué se produce el cáncer de próstata? Aproximación a un modelo genético y molecular*. Revista Urología Colombiana (Vol. XIV). Sociedad Colombiana de Urología.

- Vairaktaris, E., Yapijakis, C., Serefoglou, Z., Avgoustidis, D., Critselis, E., Spyridonidou, S., ... Patsouris, E. (2008). Gene expression polymorphisms of interleukins-1 β , -4, -6, -8, -10, and tumor necrosis factors- α , - β : Regression analysis of their effect upon oral squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 134(8), 821–832. <https://doi.org/10.1007/s00432-008-0360-z>
- Van Gils, C. H., Bostick, R. M., Stern, M. C., & Taylor, J. A. (2002). Differences in base excision repair capacity may modulate the effect of dietary antioxidant intake on prostate cancer risk: An example of polymorphisms in the XRCC1 gene. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 11(11), 1279–1284.
- VanCleave, T., Moore, J., Benford, M., Brock, G., Kalbfleisch, T., Baumgartner, R., ... Kidd, L. (2010). Interaction among variant vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor in relation to prostate cancer risk. *Prostate*, 70(4), 341–352. <https://doi.org/10.1002/pros.21067>.
- Varela, T. A., Fariña, J., Diéguez, L. P., & Lodeiro, R. (2008). Gene flow and genetic structure in the Galician population (NW Spain) according to Alu insertions. *BMC Genetics*, 9(1), 79. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-79>
- Vendramini-Costa, D., & Carvalho, J. (2012). Molecular Link Mechanisms between Inflammation and Cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 18(26), 3831–3852. <https://doi.org/10.2174/138161212802083707>
- Vera, P. L., & Meyer-Siegler, K. L. (2011). Association between macrophage migration inhibitory factor promoter region polymorphism (-173 G/C) and cancer: A meta-analysis. *BMC Research Notes*, 4(1), 395. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-395>
- Vishnoi, M., Pandey, S. N., Choudhury, G., Kumar, A., Modi, D. R., & Mittal, B. (2007). Do TNFA-308 G/A and il6-174 G/C gene polymorphisms modulate risk of gallbladder cancer in the north indian population? *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 8(4), 567–572.
- Vogelstein, B., & Gillespie, D. (1979). Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(2), 615–619.
- Walker, E. (1976). Drug therapy for Parkinsonism. *Modern Healthcare*, 5(1), 62.
- Walter, M. R. (2015). The molecular basis of IL-10 function: from receptor structure to the onset of signaling. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 380, 191–212. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43492-5_9.
- Wang, C., Sturgis, E. M., Chen, X., Wei, Q., & Li, G. (2016). A functional variant at miRNA-122 binding site in IL-1 α 3' UTR predicts risk of recurrence in patients with oropharyngeal cancer. *Oncotarget*, 7(23), 34472–34479. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8908>

- Wang, H., Hua, M., Wang, S., Yu, J., Chen, C., Zhao, X., ... Ma, D. (2017). Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia. *Inflammation Research*, 66(3), 249–258. <https://doi.org/10.1007/s00011-016-1012-4>
- Wang, L., Jiang, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Huang, S., Wang, Z., ... Pang, D. (2012). Association analysis of IL-17A and IL-17F polymorphisms in Chinese han women with breast cancer. *PLoS ONE*, 7(3), e34400. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034400>
- Wang, M.-H., Helzlsouer, K. J., Smith, M. W., Hoffman-Bolton, J. A., Clipp, S. L., Grinberg, V., ... Buchanan Brady, J. (2009). Association of IL10 and Other Immune Response-and Obesity-Related Genes with Prostate Cancer in CLUE II. *Prostate*, 69(8), 874–885. <https://doi.org/10.1002/pros.20933>
- Wang, M.-H., Helzlsouer, K. J., Smith, M. W., Hoffman-Bolton, J. A., Clipp, S. L., Grinberg, V., ... Platz, E. A. (2009). Association of IL10 and other immune response and obesity related genes with prostate cancer in CLUE II. *Prostate*, 69(8), 874–885. <https://doi.org/10.1002/pros.20933>.
- Wang, M., Wang, M., Yuan, L., Wu, D., Zhang, Z., Yin, C., ... Zhang, Z. (2010). A novel XPF-357A>C polymorphism predicts risk and recurrence of bladder cancer. *Oncogene*, 29(13), 1920–1928. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.484>
- Wang, N., Yang, J., Lu, J., Qiao, Q., Bao, G., Wu, T., & He, X. (2014). IL-17 gene polymorphism is associated with susceptibility to gastric cancer. *Tumor Biology*, 35(10), 10025–10030. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2255-8>
- Wei, Y.-S., Lan, Y., Liu, Y.-G., Tang, H., Tang, R.-G., & Wang, J.-C. (2007). Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Oncologica*, 46(8), 1090–1096. <https://doi.org/10.1080/02841860701373595>
- Wilkening, S., Hemminki, K., Rudnai, P., Gurzau, E., Koppova, K., Kumar, R., & Försti, A. (2006). Case-control study in basal cell carcinoma of the skin: Single nucleotide polymorphisms in three interleukin promoters pre-analysed in pooled DNA. *British Journal of Dermatology*, 155(6), 1139–1144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2006.07440.x>
- Wilkening, Stefan, Tavelin, B., Canzian, F., Enquist, K., Palmqvist, R., Altieri, A., ... Försti, A. (2008). Interleukin promoter polymorphisms and prognosis in colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 29(6), 1202–1206. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn101>
- Winchester, D. A., Till, C., Goodman, P. J., Tangen, C. M., Santella, R. M., Johnson-Pais, T. L., ... Platz, E. A. (2015). Variation in genes involved in the immune response and prostate cancer risk in the placebo arm of the Prostate Cancer Prevention Trial. *Prostate*, 75(13), 1403–1418. <https://doi.org/10.1002/pros.23021>
- Winslow, T. (2005). Aparato reproductor masculino. Retrieved May 28, 2018, from <https://www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR766320-750.jpg>

- Włodarczyk, M., & Nowicka, G. (2019). Obesity, DNA damage, and development of obesity-related diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1146. <https://doi.org/10.3390/ijms20051146>
- Wolk, A. (2005). Diet, lifestyle and risk of prostate cancer. *Acta Oncologica*, 44(3), 277–281. <https://doi.org/10.1080/02841860510029572>
- World Health Organization. (2004). *Tobacco Smoke and Involuntary Smoking*. WHO press.
- World Health Organization. (2019a). Cancer Incidence in Five Continents. Retrieved September 18, 2019, from <http://ci5.iarc.fr/Default.aspx>
- World Health Organization. (2019b). Global Cancer Observatory. Retrieved September 18, 2019, from <http://gco.iarc.fr/>
- World Health Organization. (2019c). IARC – International Agency for Research on Cancer. Retrieved September 18, 2019, from <https://www.iarc.fr/>
- World Health Organization. (2019d). Organización Mundial de la Salud. Retrieved July 4, 2019, from <https://www.who.int/es>
- Wróbel, T., Gębura, K., Wysoczańska, B., Jaźwiec, B., Dobrzyńska, O., Mazur, G., ... Bogunia-Kubik, K. (2014). IL-17F gene polymorphism is associated with susceptibility to acute myeloid leukemia. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 140(9), 1551–1555. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1674-7>
- Wu, M.-S., Wu, C.-Y., Chen, C.-J., Lin, M.-T., Shun, C.-T., & Lin, J.-T. (2003). Interleukin-10 genotypes associate with the risk of gastric carcinoma in Taiwanese Chinese. *International Journal of Cancer*, 104(5), 617–623. <https://doi.org/10.1002/ijc.10987>
- Wu, X., Zeng, Z., Chen, B., Yu, J., Xue, L., Hao, Y., ... Hu, P. (2010). Association between polymorphisms in interleukin-17A and interleukin-17F genes and risks of gastric cancer. *International Journal of Cancer*, 127(1), 86–92. <https://doi.org/10.1002/ijc.25027>
- Wyss, A. B., Herring, A. H., Avery, C. L., Weissler, M. C., Bensen, J. T., Barnholtz-Sloan, J. S., ... Olshan, A. F. (2013). Single nucleotide polymorphisms in nucleotide excision repair genes, cigarette smoking, and the risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 22(8), 1428–1445. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0185>
- Xi, X.-E., Liu, Y., Lu, Y., Huang, L., Qin, X., & Li, S. (2015). Interleukin-17A and interleukin-17F gene polymorphisms and hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma risk in a Chinese population. *Medical Oncology*, 32(1), 355. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0355-3>
- Xu, B., Li, Y., Dong, S., Qi, J., Feng, H., Zi, L., & Yang, D. (2016). IL-17 rs2275913 genetic variation contributes to the development of gastric cancer in a Chinese population. *Genetics and Molecular Research*, 15(2), 1–7. <https://doi.org/10.4238/gmr.15027756>

- Xu, H., Ding, Q., & Jiang, H.-W. (2014). Genetic polymorphism of interleukin-1A (IL-1A), IL-1B, and IL-1 receptor antagonist (IL-1RN) and prostate cancer risk. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(20), 8741–8747. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.20.8741>
- Xu, J., Lowey, J., Wiklund, F., Sun, J., Lindmark, F., Hsu, F. C., ... Grönberg, H. (2005). The interaction of four genes in the inflammation pathway significantly predicts prostate cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 14(11), 2563–2568. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0356>
- Xu, Z., Hua, L.-X., Qian, L.-X., Yang, J., Wang, X.-R., Zhang, W., & Wu, H.-F. (2007). Relationship between XRCC1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in men from Han, Southern China. *Asian Journal of Andrology*, 9(3), 331–338. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2007.00263.x>
- Yalçın, S., Mutlu, P., Çetin, T., Sarper, M., Özgür, G., & Avcu, F. (2015). The -137G/C Polymorphism in Interleukin-18 Gene Promoter Contributes to Chronic Lymphocytic and Chronic Myelogenous Leukemia Risk in Turkish Patients. *Turkish Journal of Hematology*, 32(4), 311–316. <https://doi.org/10.4274/tjh.2014.0126>
- Yan, H., Sun, R., Pan, X., Li, Z., Guo, X., & Gao, L. (2015). Lack of association between an insertion/ deletion polymorphism in IL1A and risk of colorectal cancer. *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 8490–8495. <https://doi.org/10.4238/2015.July.28.17>
- Yang, J. J., Ko, K.-P., Cho, L. Y., Shin, A., Gwack, J., Chang, S.-H., ... Park, S. K. (2009). The role of TNF genetic variants and the interaction with cigarette smoking for gastric cancer risk: A nested case-control study. *BMC Cancer*, 9(1), 238. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-238>
- Yang, L.-J., Gao, W., Bai, J.-Y., Zhang, X.-K., Han, X., Sun, Y.-H., ... Zhang, M.-M. (2016). Correlation between Interleukin-17 gene polymorphism and gastric cancer susceptibility in Han Chinese population. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(7), 1271–1282.
- Yang, L., Liu, H., Zhang, L., Hu, J., Chen, H., Wang, L., ... Qi, Y. (2016). Effect of IL-17 in the development of colon cancer in mice. *Oncology Letters*, 12(6), 4929–4936. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5329>
- Yang, M., Li, C., & Li, M. (2014). Association of interleukin-6 (-174 G/C) polymorphism with the prostate cancer risk: A meta-analysis. *Biomedical Reports*, 2(5), 637–643. <https://doi.org/10.3892/br.2014.300>
- Yang, X.-P., Ghoreschi, K., Steward-Tharp, S. M., Rodriguez-Canales, J., Zhu, J., Grainger, J. R., ... Laurence, A. (2011). Opposing regulation of the Il17 locus through direct, reciprocal actions of STAT3 and STAT5. *Nature Immunology*, 12(3), 247–254. <https://doi.org/10.1038/ni.1995>

- Yang, Y.-C., Chang, T.-Y., Chen, T.-C., Chang, S.-C., Lin, W.-S., & Lee, Y.-J. (2013). Genetic variants in interleukin-18 gene and risk for cervical squamous cell carcinoma. *Human Immunology*, 74(7), 882–887. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2013.04.001>
- Yang, Y., & Fa, X. (2015). Role of IL-10 gene polymorphisms on the susceptibility for esophageal cancer and its association with environmental factors. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(8), 9580–9585.
- Yang, Z.-H., Dai, Q., Zhong, L., Zhang, X., Guo, Q.-X., & Li, S.-N. (2011). Association of IL-1 polymorphisms and IL-1 serum levels with susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Molecular Carcinogenesis*, 50(3), 208–214. <https://doi.org/10.1002/mc.20706>
- Ye, Z.-B., Ma, T., Li, H., Jin, X.-L., & Xu, H.-M. (2007). Expression and significance of intratumoral interleukin-12 and interleukin-18 in human gastric carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 13(11), 1747–1751. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i11.1747>
- Yencilek, F., Yildirim, A., Yilmaz, S. G., Altinkilic, E. M., Dalan, A. B., Bastug, Y., & Isbir, T. (2015). Investigation of interleukin-1B Polymorphisms in prostate cancer. *Anticancer Research*, 35(11), 6057–6062.
- Yin, J., Wang, L., Shi, Y., Shao, A., Tang, W., Wang, X., ... Gu, H. (2014). Interleukin 17A rs4711998 A>G polymorphism was associated with a decreased risk of esophageal cancer in a Chinese population. *Diseases of the Esophagus*, 27(1), 87–92. <https://doi.org/10.1111/dote.12045>
- Yu, X., Zhou, B., Zhang, Z., Lan, Z., Chen, P., Duan, R., ... Xi, M. (2016). Insertion/deletion polymorphism in IL1A 3'-UTR is associated with susceptibility to endometrial cancer in Chinese Han women. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 42(8), 983–989. <https://doi.org/10.1111/jog.12989>
- Zabaleta, J., Lin, H.-Y., Sierra, R. A., Hall, M. C., Clark, P. E., Sartor, O. A., ... Ochoa, A. C. (2008). Interactions of cytokine gene polymorphisms in prostate cancer risk. *Carcinogenesis*, 29(3), 573–578. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgm277>
- Zeng, X.-F., Li, J., & Li, S.-B. (2014). A functional polymorphism in IL-1A gene is associated with a reduced risk of gastric cancer. *Tumor Biology*, 35(1), 265–268. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-1034-2>
- Zeyda, M., & Stulnig, T. M. (2007). Adipose tissue macrophages. *Immunology Letters*, 112(2), 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2007.07.003>
- Zhang, A., Yu, J., Yan, S., Zhao, X., Chen, C., Zhou, Y., ... Ma, D. (2018). The genetic polymorphism and expression profiles of NLRP3 inflammasome in patients with chronic myeloid leukemia. *Human Immunology*, 79(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.10.013>
- Zhang, B., Wang, Y., Zheng, G.-G., Ma, X.-T., Li, G., Zhang, F.-K., & Wu, K.-F. (2002). Clinical significance of IL-18 gene over-expression in AML. *Leukemia Research*, 26(10), 887–892. [https://doi.org/10.1016/S0145-2126\(02\)00025-5](https://doi.org/10.1016/S0145-2126(02)00025-5)

- Zhang, F., Meng, G., & Strober, W. (2008). Interactions among the transcription factors Runx1, ROR γ t and Foxp3 regulate the differentiation of interleukin 17-producing T cells. *Nature Immunology*, 9(11), 1297–1306. <https://doi.org/10.1038/ni.1663>
- Zhang, J.-S., Zhang, C., Yan, X.-Y., Yuan, Z.-F., Duan, Z.-Y., & Gao, H. (2013). Effect of xeroderma pigmentosum complementation group F polymorphisms on gastric cancer risk and associations with H. pylori infection. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(3), 1847–1850. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.3.1847>
- Zhang, J., Dhakai, I. B., Greene, G., Lang, N. P., & Kadlubar, F. F. (2010). Polymorphisms in hOGG1 and XRCC1 and risk of prostate cancer: effects modified by plasma antioxidants. *Urology*, 75(4), 779–785. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2009.08.063>. Polymorphisms
- Zhang, J., Dhakal, I. B., Lang, N. P., & Kadlubar, F. F. (2010). Polymorphisms in inflammatory genes, plasma antioxidants, and prostate cancer risk. *Cancer Causes and Control*, 21(9), 1437–1444. <https://doi.org/10.1007/s10552-010-9571-0>
- Zhang, X., Zheng, L., Sun, Y., & Zhang, X. (2014). Analysis of the association of interleukin-17 gene polymorphisms with gastric cancer risk and interaction with Helicobacter pylori infection in a Chinese population. *Tumor Biology*, 35(2), 1575–1580. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-1217-x>
- Zhang, Y., Sturgis, E. M., Sun, Y., Sun, C., Wei, Q., Huang, Z., & Li, G. (2015). A functional variant at miRNA-122 binding site in IL-1 α 3' UTR predicts risk and HPV-positive tumors of oropharyngeal cancer. *European Journal of Cancer*, 51(11), 1415–1423. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.04.016>
- Zhang, Zhenzhong, Liu, W., Jia, X., Gao, Y., Hemminki, K., & Lindholm, B. (2004). Use of Pyrosequencing to detect clinically relevant polymorphisms of genes in basal cell carcinoma. *Clinica Chimica Acta*, 342(1–2), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.12.010>
- Zhang, Zhu, Zhou, B., Gao, Q., Wu, Y., Zhang, K., Pu, Y., ... Xi, M. (2014). A polymorphism at miRNA-122-binding site in the IL-1 α 3'UTR is associated with risk of epithelial ovarian cancer. *Familial Cancer*, 13(4), 595–601. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9739-y>
- Zheng, C., Huang, D. R., Bergenbrant, S., Sundblad, A., Österborg, A., Björkholm, M., ... Yi, Q. (2000). Interleukin 6, tumour necrosis factor α , interleukin 1 β and interleukin 1 receptor antagonist promoter or coding gene polymorphisms in multiple myeloma. *British Journal of Haematology*, 109(1), 39–45. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2000.01963.x>
- Zheng, L., Yin, J., Wang, L., Wang, X., Shi, Y., Shao, A., ... Gu, H. (2013). Interleukin 1B rs16944 G>A polymorphism was associated with a decreased risk of esophageal cancer in a Chinese population. *Clinical Biochemistry*, 46(15), 1469–1473. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.05.050>

- Zhi, Y., Yu, J., Liu, Y., Wei, Q., Yuan, F., Zhou, X., ... Yang, J. (2012). Interaction between polymorphisms of DNA repair genes significantly modulated bladder cancer risk. *International Journal of Medical Sciences*, 9(6), 498–508. <https://doi.org/10.7150/ijms.4799>
- Zhou, B., Zhang, P., Wang, Y., Shi, S., Zhang, K., Liao, H., & Zhang, L. (2013). Interleukin-17 gene polymorphisms are associated with bladder cancer in a chinese han population. *Molecular Carcinogenesis*, 52(11), 871–878. <https://doi.org/10.1002/mc.21928>
- Zidi, S., Stayoussef, M., Alsaleh, B. L., Gazouani, E., Mezlini, A., Ebrahim, B. H., ... Almawi, W. Y. (2017). Relationships between Common and Novel Interleukin-6 Gene Polymorphisms and Risk of Cervical Cancer: a Case-Control Study. *Pathology and Oncology Research*, 23(2), 385–392. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0127-9>
- Zou, Y.-F., Wang, F., Feng, X.-L., Tian, Y.-H., Tao, J.-H., Pan, F.-M., & Huang, F. (2011). Lack of association of IL-10 gene polymorphisms with prostate cancer: Evidence from 11,581 subjects. *European Journal of Cancer*, 47(7), 1072–1079. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.11.034>
- Zuo, X., Li, M., Yang, Y., Liang, T., Yang, H., Zhao, X., & Yang, D. (2018). Interleukin gene polymorphisms in Chinese Han population with breast cancer, a case-control study. *Oncotarget*, 9(26), 17994–18001. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23157>



7. ANEXOS.



Anexo 1.

TABLAS RESUMEN ESTUDIOS CASO-CONTROL.

Tabla I. Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-1α rs3783553 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo Del		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical	China (Han)	319	424	69,9	62,1	Ins/Ins protección Significativo	Ins/Del 0,74 (0,55-1,00) Ins/Ins 0,46 (0,28-0,77)	(Pu et al., 2014)
Cervical céls. Escamosas	China	235	326	34,04	32,67	Ins protección Ins/Del riesgo	Ins/Del 1,35 (0,95-1,93) Ins/Ins 0,48 (0,25-0,95)	(Huang et al., 2015)
Colorrectal	China (Han)	339	313	65,5	62,5	No asociación	Ins/Del 0,96 (0,69-1,34) Ins/Ins 0,71 (0,43-1,16)	(Yan et al., 2015)
Endometrio	China	272	294	67,1	32,9	No asociación	Ins/Del 0,95 (0,66-1,35) Ins/Ins 0,56 (0,52-0,96)	(Yu et al., 2016)
Epitelio ovárico	China	301	240	69,4	62,1	Ins Protección Significativo	Ins/Del 0,74 (0,51-1,06) Ins/Ins 0,52 (0,30-0,90)	(Zhang et al., 2014)
Gástrico	China (Han)	207	381	68,1	62,6	Ins/Ins protección Significativo	Ins/Del 0,91 (0,64-1,30) Ins/Ins 0,48 (0,26-0,90)	(Zeng et al., 2014)
Hepatocelular	China (Han)	1477	1673	67,03	29,11	Ins protección Significativo	Ins/Del 0,79 (0,68-0,92) Ins/Ins 0,62 (0,49-0,78)	(Gao et al., 2009)
Hepatocelular + HBV	China	1012	1021	33,84	64,89	No asociación	Ins/Del 0,98 (0,88-1,08) Ins/Ins 1,09 (0,79-1,49)	(Du et al., 2014)
Nasofaríngeo	China (Han)	248	296	67,3	58,8	Del protección Significativo	Ins/Del 0,76 (0,53-1,10) Del/Del 0,47 (0,28-0,80)	(Yang et al., 2011)

Tabla I (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-1α rs3783553 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo Del		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical	China (Han)	319	424	69,9	62,1	Ins/Ins protección	Ins/Del 0,74 (0,55-1,00)	(Pu et al., 2014)
Oral céls. escamosas + HPV	EEUU	325	335			Del/Del riesgo Significativo	Del/Del 1,60 (1,20-2,20)	(Zhang et al., 2015)
Papilar de Tiroides	China	273	509	65,2	65,2	No asociación	Ins/Del 1,03 (0,75-1,40) Ins/Ins 0,98 (0,59-1,61)	(Gao et al., 2014)
Próstata	China (Han)	131	229			Del protección Significativo	Ins 0,56 (0,40-0,79) (Del/Del)/Ins 0,48 (0,31-0,74)	(Liao et al., 2014)
Próstata	Irán	150	155	34,3	25,5	Del riesgo Significativo	Ins/Del 1,44 (0,90-2,30) Del/Del 3,01 (1,17-7,76)	(Hashemi et al., 2018)

Tabla II. Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-1B rs16944 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical de útero + HPV	India (Bengal)	110	107	66	51	A riesgo Modelo desconocido	1,87 (1,01-3,44)	(Dutta et al., 2015)
Esofágico	China	380	380	59,47	48,03	AG y AA protección Significativo	AG/GG 0,68 (0,48-0,95) AG+AA/GG 0,71 (0,51-0,99)	(Zheng et al., 2013)
Gástrico + H. pylori	Caucasoides	366	429	42,08	30,07	AG y AA riesgo Significativo	AA 2,60 (1,70-3,90) AG 1,80 (1,30-2,40)	(El-Omar et al., 2000)
Gástrico	Portugal	152	218	39,2	34,2	A riesgo Significativo	AG 2 (1,2-3,1) AA 1,1 (0,6-2,2)	(Machado et al., 2001)

Tabla II (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-1B rs16944 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Gástrico	Portugal	287	306	38,85	34,15	A riesgo Significativo	AG+AA 1,8 (1,3-2,5) GG referencia	(Machado et al., 2003)
Gástrico	China	220	230	44,5	46,5	No asociación	AG 0,76 (0,49-1,16) AA 0,88 (0,52-1,51)	(Wu et al., 2003)
Gástrico	China	250	300	46,2	50,5	No asociación	AG 0,70 (0,47-1,06) AA 0,72 (0,44-1,20)	(Lu et al., 2005)
Gástrico	Italia	86 + 98	146 + 216	34,88 + 32,14	31,51 + 58,8	No asociación		(Perri et al., 2005)
Hepatocelular + HPV	Tailandia	46	90	40,22	52,78	No asociación		(Hirankarn et al., 2006)
Leucemia mieloide aguda	China	383	300	48,3	49	No asociación	AA 0,95 (0,62-1,45) AG 1,02 (0,71-1,47)	(Wang et al., 2017)
Leucemia mieloide crónica	China	267	344	49,1	50,6	No asociación	GG 1,13 (0,72-1,77) CT 1,15 (0,77-1,70)	(Zhang et al., 2018)
Mama	Caucasoides	144	263	32,99	40,49	No asociación		(Smith et al., 2004)
Mama	Caucasoides	269	227	32,71	36,78	No asociación	AG 0,7 (0,5-1,1) AA 0,8 (0,4-1,4)	(Hefler et al., 2005)
Mama	China	365	631	50,96	44,61	A riesgo Significativo	AG/GG 1,20 (0,86-1,67) AG+AA/GG 1,36 (1,00-1,85)	(Jiyong Liu et al., 2006)
Mama	India	200	200	65,75	64	No asociación	A/G 0,93 (0,69-1,24) AA/GG+AG 0,78 (0,53-1,16)	(Pooja et al., 2012)
Mama	Afroamericanas	213	208	55,9	53,6	No asociación	AG 1,65 (0,97-2,83) GG/AG 1,44 (0,87-2,39)	(Gong et al., 2013)
Mama	Americanas europeas	141	146	43,26	29,8	A y A riesgo Significativo	AG 1,54 (0,91-2,61) AA 3,58 (1,58-8,14)	(Gong et al., 2013)

Tabla II (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-1B rs16944 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Mama	China	530	628	47,55	50	AA y AG protección Significativo	AG/GG 0,60 (0,41-0,90) GG/AG+AA 0,67 (0,46-0,97)	(Zuo et al., 2018)
Ovario	Caucasoides	147	129	86,2	84,2	No asociación	GG 0,99 (0,75-1,31) AG 0,82 (0,48-1,41) AA 1,06 (0,88-1,28)	(Braicu et al., 2007)
Piel	Caucasoides	528	529	31,2	34,3	No asociación	AA/GG 0,78 (0,52-1,18) AG/GG 0,95 (0,73-1,23)	(Wilkening et al., 2006)
Próstata	Caucasoides	247	263	33,6	40,49	No asociación		(McCarron et al., 2002)
Próstata	EEUU (mezcla)	473	607	32,35	36,57	No asociación	AG 0,86 (0,66-1,12) AA 0,80 (0,54-1,20)	(Michaud et al., 2006)
Próstata	Caucasoides	477	444	34,38	30,86	No asociación	AA 0,90 (0,59-1,39) AG 1,07 (0,80-1,42)	(Zabaleta et al., 2008)
Próstata	Afroamericanos	67	129	57,46	50	No asociación	AA 1,71 (0,77-3,82) AG 1,39 (0,65-2,99)	(Zabaleta et al., 2008)
Próstata	EEUU	193	197			No asociación	AA+AG/GG 1,12 (0,70-1,80)	(Zhang et al., 2010)
Próstata	Caucasoides	78	259	48,1	52,5	No asociación		(Ianni et al., 2013)
Próstata	Turquía	71	76	45,7	44	AG protección Significativo	AG 0,34 (0,16-0,74) AA 1,48 (0,57-3,84)	(Yencilek et al., 2015)
Pulmón	Japón	462	379	39,5	43,7	No asociación	AA 0,73 (0,50-1,07) AG 0,84 (0,62-1,14)	(Kiyohara et al., 2014)
Pulmón	EEUU (mezcla)	625	625	30,4	35,28	A protección Significativo	AG/GG 0,74 (0,58-0,94) AA/GG 0,71 (0,50-1,01)	(Eaton et al., 2018)

Tabla III. Resumen de estudios de estudios caso-control entre IL-18 rs187238 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo C		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical de céls. Escamosas	China	470	722	13,8	11,9	No asociación	CG 1,20 (0,91-1,58) CC 1,23 (0,48-3,15)	(Yang et al., 2013)
Colorrectal	España	156	502	22,8	28,1	No asociación	CC/CG 1,39 (0,55-3,45) GG/CG 0,77 (0,51-1,08)	(Sáenz-López et al., 2010)
Esofágico de céls. Escamosas	China	235	250	26,6	16,4	C riesgo Significativo	CG/GG 1,91 (1,29-2,82) CC/GG 2,95 (1,23-7,04)	(Wei et al., 2007)
Hepatocelular	China	342	559	11,55	7,87	CG riesgo Significativo	CG/GG 1,675 (1,18-2,38) CC/GG 1,074 (0,26-4,53)	(Lau et al., 2016)
Leucemia linfocítica crónica	Turquía	20	30	25	11,7	No casos CC No asociación	CG 0,36 (0,07-1,97) CC 16,64 (0,84-328,4)	(Yalçın et al., 2015)
Leucemia mieloide crónica	Turquía	30	30	31,6	11,7	No casos CC No asociación	CG 1,902 (0,62-5,86) CC 10,358 (0,53-201,5)	(Yalçın et al., 2015)
Linfoma no Hodgkin	Rusia	238	371	28,8	29,1	No asociación	CG/GG 1,11 (0,79-1,57) CC/GG 0,82 (0,45-1,49)	(Surovtseva et al., 2014)
Mama	Brasil	154	118	34,7	27,11	CC riesgo Significativo	CG/GG 0,908 (0,53-1,55) CC/GG 3,989 (1,33-12,77)	(Back et al., 2014)
Nasofaríngeo	Italia	89	130	59,55	48,46	Cohorte No asociación	CG/GG 1,2 (0,5-3,0) CC/GG 2,1 (0,4-4,3)	(Pratesi et al., 2006)
Nasofaríngeo	Túnez	163	164	63,19	57,32	No asociación	CG/GG 1,19 (p = 0,45) CC/GG 1,28 (p = 0,55)	(Farhat et al., 2008)
Nasofaríngeo	China	250	270	26,4	17	C riesgo Significativo	CG/GG 1,697 (1,16-2,49) CC/GG 2,70 (1,27-5,75)	(Nong et al., 2009)
Oral	China	567	559	12,2	7,87	No asociación	CG/GG 1,41 (0,82-2,41) CC/GG 1,32 (0,13-13,08)	(Tsai et al., 2013)
Oral de céls. Escamosas	N. India	272	185	9,37	17,03	C y CG riesgo No casos CC	CG/GG 2,238 (1,46-3,44) C/G 1,984 (1,34-2,95)	(Singh et al., 2014)

Tabla III (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-18 rs187238 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo C		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Próstata	China	265	280	25,7	17,3	C riesgo Significativo	CG 1,72 (1,19-2,50) CC 2,18 (1,03-4,6)	(Liu et al., 2007)
Próstata	China (Han)	375	400	9,87	12,25	No hay casos CC No asociación	CG/GG 0,80 (0,56-1,12) C/G 0,78 (0,57-1,08)	(Liu et al., 2013)
Pulmón	Irán	73	97	32,2	27,3	No asociación	CG/GG 1,54 (0,79-2,88) CC/GG 1,24 (0,42-3,67)	(Farjadfar et al., 2009)
Tiroides	Irán	98	148	23	23,6	No asociación	CG 0,83 (0,47-1,47) CC 1,31 (0,38-4,52)	(Abdolahi et al., 2015)
Vejiga	N. India	200	200	31	21,7	C riesgo Significativo	CG/GG 1,96 (1,26-3,06) CC/GG 2,05 (0,55-7,56)	(Jaiswal et al., 2013)

Tabla IV. Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Céls. basales	Suecia	241	260	50,2	51,2	No asociación	CG 1,05 (0,67-1,67) CC 0,93 (0,54-1,58)	(Zhang et al., 2004)
Céls. basales	Suecia y Finlandia	241	260	50,2	51,2	No asociación	CG/GG 1,05 (0,67-1,67) CC/GG 0,93 (0,54-1,24)	(Festa et al., 2005)
Cervical	Brasil	56	253	71	79	C riesgo No casos CC Significativo	CG+CC/GG 1,88 (1,1-3,4)	(Nogueira de Souza et al., 2006)
Neoplasia intraepitelial cervical	Austria	131	209	61,5	63,5	No asociación Modelo desconocido	OR 1,0 (0,6-1,5)	(Grimm et al., 2011)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical	China	518	518	55,3	59,9	CC riesgo Significativo	CC/GG 1,52 (1,06-2,19) C/G 1,21 (1,02-1,44)	(W.-J. Shi et al., 2014)
Cervical	China (Han)	360	728	71	80,5	C riesgo Significativo	CG/GG 1,56 (1,22-2,02) CC/GG 2,05 (1,30-2,95)	(Pu et al., 2016)
Cervical	Túnez	112	164	83,5	8,7	No asociación	GG/CG 0,60 (0,32-1,13) GG/CC 0,60 (0,19-1,95)	(Zidi et al., 2017)
Colon	EEUU	1573	1972	62	60	No asociación	CG 0,93 (0,80-1,07) CC 0,85 (0,70-1,03)	(Slattery et al., 2007)
Colon	Croacia	160	160	61,9	65,9	No asociación	CG/GG 0,99 (0,62-1,59) CC/GG 1,63 (0,81-3,27)	(Čačev et al., 2010)
Colorrectal	España	361	311	62	68	C riesgo Significativo	CG/GG 1,50 (1,08-2,09) CG+CC/GG 1,53 (1,12-2,09)	(Landi et al., 2003)
Colorrectal	EEUU	204	190	61	65	No asociación	CG 1,1 (0,7-1,8) CC 1,5 (0,8-2,9)	(Gunter et al., 2006)
Colorrectal	Grecia	222	200	67,1	53,5	Significativo Modelo desconocido	Codom. 2,10 (1,40-3,16) G/C 1,77 (1,34-2,34)	(Theodoropoulos et al., 2006)
Colorrectal	Francia	1023	1121	59,4	61,3	Modelo desconocido No asociación	CG 1,12 (0,92-1,35) CC 1,13 (0,94-1,34)	(Küry et al., 2008)
Colorrectal	Suecia	303	580	53	53,5	No asociación CC peor pronóstico	CG/GG 1,12 (0,80-1,57) CC/GG 1,04 (0,68-1,57)	(Stefan Wilkening et al., 2008)
Colorrectal	EEUU	200	354	57,25	56	No asociación	CG 0,87 (0,58-1,30) CC 0,93 (0,57-1,54)	(Tsilidis et al., 2009)
Colorrectal	Canadá	1133	1125	58	57	No asociación	CG/GG 1,01 (0,84-1,22) CC/GG 0,90 (0,70-1,14)	(Hawken et al., 2010)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Colorrectal	mezcla	269	536	78	79	No asociación	CG 1,34 (0,88-2,03) CC 1,30 (0,71-2,39)	(Ognjanovic et al., 2010)
Colorrectal	España	1405	1338	64	67,6	No asociación	CG/GG 1,03 (0,88-1,21) CC/GG 1,08 (0,85-1,37)	(Abulí et al., 2011)
Esofágico	EEUU	24	209	67	63	No asociación	CG 0,5 (0,2-1,5) CC 1,2 (0,4-4,1)	(El-Omar et al., 2003)
Esofágico	EEUU	66	209	55	63	No asociación	CG 1,4 (0,8-2) CC 1,9 (0,8-4,4)	(El-Omar et al., 2003)
Esofágico céls. escamosas	India	168	201	88,7	81,1	GG riesgo elevado Significativo	GG/CC+CG 2,29 (1,4-3,72) G/C 1,86 (1,22-2,85)	(Upadhyay et al., 2008)
Gástrico (cardio)	EEUU	58	209	65	63	No asociación	CG 1,1 (0,6-2,1) CC 0,6 (0,2-18)	(El-Omar et al., 2003)
Gástrico (no cardio)	EEUU	65	209	67	63	No asociación	CG 0,7 (0,3-1,3) CC 1,3 (0,5-3,1)	(El-Omar et al., 2003)
Gástrico	Finlandia	102	157	47	51	Modelo desconocido CG riesgo Significativo	CG 2,16 (1,16-4,02) CC 1,45 (0,73-2,91)	(Kamangar et al., 2006)
Gástrico difuso	Finlandia	25	179	62	44,7	G riesgo Significativo	GG/CC 6,054 (1,217-30,111) GC/CC 4,884 (1,075-22,180)	(Pohjanen et al., 2013)
Gástrico	Europa y Asia	52	87	72,1	68,4	No asociación Modelo desconocido	CG 1,47 (0,55-3,89) CC 1,42 (0,33-6,20)	(dos Santos et al., 2018)
Gastroesofágico	Reino Unido	197	224	57	58	No asociación Modelo desconocido	GG 1,034 (0,69-1,54) CG 0,887 (0,603-1,304)	(Deans et al., 2007)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Hepatocelular	Europa	66	153	72	68	N muy baja en CC	CG/GG 0,75 (0,416-1,354) CC/GG 7,5 (1,208-45,603)	(Falleti et al., 2009)
Hepatocelular	EEUU no asiáticos	117	221			No asociación	CC+CG ref GG 1,44 (0,89-2,34)	(Ognjanovic et al., 2009)
Intestinal	Finlandia	31	179	50	44,7	No asociación	GG/CC 1,514 (0,453-5,052) GC/CC 2,062 (0,776-5,481)	(Pohjanen et al., 2013)
Leucemia linfocítica crónica	Italia	39	112	64	76,3	CC riesgo	CG 1,4 (0,6-3,1) CC 4,5 (1,1-19,3)	(Ennas et al., 2008)
Linfoma de Hodgkin	Gran Bretaña	408	349	57	56,7	No asociación	CG 0,88 (0,64-1,23) CC 1,03 (0,67-1,59)	(Cordano et al., 2005)
Linfoma infantil de Hodgkin	Grecia	36	81	79	76,5	No asociación	CG 0,68 (0,28-1,64) CC 1,26 (0,2-7,84)	(Andrie et al., 2009)
Linfoma no Hodgkin	no indicado	3066	3499	83,7	60,2	No asociación	CG 1,02 (0,92-1,14) CC 1,01 (0,87-1,18)	(Rothman et al., 2006)
Linfoma no Hodgkin	no indicado	510	590	64	63,2	No asociación	CG 0,90 (0,76-1,26) CC 0,90 (0,62-1,31)	(Lan et al., 2006)
Linfoma infantil de no Hodgkin	Grecia	45	81	84,5	76,5	No asociación	CG 0,63 (0,28-1,43) CC 0,4 (0,04-3,83)	(Andrie et al., 2009)
Linfoma no Hodgkin	China (Han)	93	204	94,6	98,5	GG riesgo Significativo	GC+CC/GG 3,976 (1,4-11,29)	(Gu et al., 2014)
Linfoma no Hodgkin	China (Uygur)	64	231	90	85,7	No asociación	GC+CC/GG 0,637 (0,325-1,25)	(Gu et al., 2014)
Linfoma no Hodgkin - DLBCL	Egipto	100	119	93	88	No hay casos CC No asociación	GG 1,803 (0,887-3,664) CG 0,582 (0,285-1,188)	(Talaat et al., 2015)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Linfoma	África subsahariana	117	88	98,3	100	No individuos CC Solo 4 casos CG		(Oduor et al., 2014)
Mama	Caucasoides	144	224	63	58	No asociación		(Smith et al., 2004)
Mama	Caucasoides	269	227	55	43	CC y CG riesgo Significativo	CG 1,5 (1,04-2,3) CC 2,0 (1,1-3,6)	(Hefler et al., 2005)
Mama	Túnez	305	160	81,3	346	C riesgo CG riesgo Significativo	CG 1,61 (1,05-2,47) CC 1,51 (0,40-6,07)	(Snoussi et al., 2005)
Mama	Holanda					No asociación	GG ref CG+CC 1,24 (0,8-1,9)	(González-Zuloeta et al., 2006)
Mama	Turquía	39	24	60,3	64,6	Modelo desconocido Significativo	OR 5,7 (1,28-28,7)	(Gonullu et al., 2007)
Mama	EEUU (blancas no-hispanas)	412	413			No asociación	GC+CC 0,97 (0,66-1,42) GG ref	(Slattery et al., 2007)
Mama	EEUU (hispanas y nativas americanas)	238	265			No asociación	GC+CC 0,97 (0,66-1,42) GG ref	(Slattery et al., 2007)
Mama	Mezcla	6190	8066	66,4	66,6	No asociación	CG 1,01 (0,91-1,11) CC 1,03 (0,89-1,19)	(Dossus et al., 2010)
Mama	India	200	200	67,5	61	No asociación	C/G 0,753 (0,563-1,006) GC+CC/GG 0,527 (0,345-0,81)	(Pooja et al., 2012)
Mama	Tailandia	389	78	63,6	14,5	No asociación	CG 1,02 (0,56-1,86) CC 1,39 (0,16-12,16)	(Sa-Nguanraksa et al., 2016)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Mieloma múltiple	Suecia	75	129	54,8	52,7	No asociación Modelo desconocido	GG 1,24 (0,66-2,35) CG 0,83 (0,47-1,48) CC 1,01 (0,50-2,07)	(Zheng et al., 2000)
Mieloma múltiple	EEUU	146	125			No asociación	GG 1 CG+CC 0,9 (0,5-1,6)	(Cozen et al., 2006)
Mieloma múltiple	India	103	117	71,8	74,3	No asociación Modelo desconocido	GG 0,7 (0,40-1,30) CG 1,30 (0,70-2,20) CC 0,90 (0,30-2,30)	(Chakraborty et al., 2017)
Neuroblastoma	Italia	326	511	73	76	No asociación	GG+GC/CC 1,31 (0,75-2,28) G/C 1,14 (0,92-1,43)	(Totaro et al., 2013)
Oral céls. escamosas	Caucasoides	162	156	57,4	77	CC riesgo Significativo	CG 3,38 (2,06-5,56) CC 4,62 (1,46-14,55)	(Vairaktaris et al., 2008)
Oral	Indios asiáticos	140	120	82,5	71,2	Modelo desconocido C protección	GG 1,97 (1,19-3,29) CG 0,64 (0,38-1,09) CC 0,40 (0,16-1,02)	(Gaur et al., 2011)
Ovario	Hawái	182	218	12	14,7	Invertidos C y G No asociación	GG 1,04 (0,3-3,51) CG 1,13 (0,62-2,06)	(Bushley et al., 2004)
Papilar de tiroides	Turquía	190	216	74	72	No asociación	CG/GG 0,76 (0,50-1,16) CC/GG 0,97 (0,48-1,98)	(Çil et al., 2014)
Próstata	EEUU	484	613	58	61,4	Modelo desconocido No asociación	CG 0,89 (0,67-1,17) CC 1,18 (0,82-1,69)	(Michaud et al., 2006)
Próstata	EEUU	250	252	59,6	58,7	No asociación	CG/GG 0,82 (0,56-1,21) CC/GG 0,99 (0,57-1,73)	(Wang et al., 2009)
Próstata	Mezcla	7937	8508	65,5	65	No asociación	GC 0,99 (0,90-1,09) CC 0,91 (0,80-1,03)	(Dossus et al., 2010)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Próstata	EEUU	166	175			No asociación	GG ref CG+CC 1,30 (0,78-2,17)	(Zhang et al., 2010)
Próstata (RFPCS)	Australia					No recuentos Modelo desconocido No asociación	Alélico 0,95 (0,82-1,09) Heterocig 1,09 (0,87-1,36) Homocig 0,86 (0,65-1,15)	(Tindall et al., 2012)
Próstata	Caucasoides	84	78	76	52,6	Modelo desconocido Aislado en numerador CC protección Significativo	GG 2,941 (1,548-5,587) CG 0,7 (0,41-1,463) CC 0,19 (0,074-0,54)	(Mandal et al., 2014)
Próstata	Afroamericanos	80	62	82,5	88,7	Modelo desconocido aislado en numerador No asociación	GG 0,7 (0,355-1,664) CG 0,8 (0,381-1,925) CC 10,91 (0,602-197,6)	(Mandal et al., 2014)
Próstata	China	212	230	77	98	No asociación	CG/GG 1,15 (0,75-1,78) CC/GG 1.86 (0,79-4,56)	(Chen et al., 2015)
Próstata	Irán	112	200	74,1	67	C Ref Modelo desconocido C asociado a metástasis	G 1,73 (1,05-2,21) GG 1,85 (1,12-2,63) CG 0,90 (0,61-1,29)	(Abbasabad et al., 2018)
Próstata	Eslovaquia	446	276	60,4	55	CG protección GG denominador Significativo	CG 0,61 (0,43-0,86) CC+CG 0,63 (0,46-0,88)	(Jureceková et al., 2018)
Pulmón céls. No pequeñas	Caucasoides	243	207	49,2	52	No asociación	CG/GG 0,91 (0,56-1,46) CC/GG 1,24 (0,72-2,14)	(Campa et al., 2004)
Pulmon céls. Escamosas	Caucasoides	77	207	40,9	52	CC riesgo Significativo	CG 1,20 (0,59-2,42) CC 2,20 (1,10-4,68)	(Campa et al., 2004)

Tabla IV (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-6 rs1800795 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo G		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Pulmón	Europeo	1995	1982	55,4	56,1	No asociación	CG 0,89 (0,76-1,04) CC 1,00 (0,82-1,22)	(Campa et al., 2005)
Pulmón	Turquía	44	58	56	66	Modelo desconocido Significativo	GG 0,34 (0,13-0,88) CG 3,16 (1,24-7,82)	(Colakogullari et al., 2008)
Rectal	España	133	311	96,4	68	C riesgo Significativo	CG/GG 1,81 (1,16-2,82) CG+CC/GG 1,78 (1,16-2,73)	(Landi et al., 2003)
Rectal	EEUU	777	995	63,6	63,3	No asociación	CG 1,08 (0,87-1,33) CC 1,03 (0,76-1,38)	(Slattery et al., 2007)
Vejiga	EEUU	444	443			CC riesgo Significativo	CG+GG ref CC 1,77 (1,25-2,51)	(Leibovici et al., 2005)
Vejiga	India	136	200	72	79	CC riesgo Significativo	CG/GG 0,647 (0,373-1,122) CC/GG 2,811 (1,389-5,69)	(Ahirwar et al., 2008)
Vesícula biliar	India	124	200	8,3	87,5	No asociación Modelo desconocido	CG 0,89 (0,49-1,60) CC 0,60 (0,06-5,90)	(Vishnoi et al., 2007)

Tabla V. Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-10 rs1800896 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Céls. basales	Suecia	241	260	48,7	24,2	No asociación Mismos datos Festa	AG 0,80 (0,51-1,25) AA 0,76 (0,47-1,24)	(Zhang et al., 2004)
Céls. basales	Suecia y Finlandia	241	260	48,8	52,7	No asociación Mismos datos Zhang	AG 0,80 (0,51-1,25) AA 0,76 (0,47-1,24)	(Festa et al., 2005)

Tabla V (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-10 rs1800896 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Adenoma colorrectal	EEUU	222	207	53,1	56,3	No asociación	AG 0,8 (0,5-1,3) GG 1,3 (0,7-2,4)	(Gunter et al., 2006)
Colorrectal	Suecia	308	585	50,6	52,2	No asociación	AG 1,04 (0,75-1,45) GG 1,11 (0,75-1,64)	(Wilkening et al., 2008)
Colorrectal	EEUU	205	372	58,3	51,5	GG protección Significativo	AG 0,79 (0,53-1,18) GG 0,58 (0,35-0,95)	(Tsilidis et al., 2009)
Colorrectal	Bulgaria	119	154	58	61	No asociación	AG 0,974 (0,552-1,718) GG 1,414 (0,614-3,11)	(Miteva et al., 2014)
Adenocarcinoma esofágico	EEUU	108	210	51,4	52,6	No asociación Modelo desconocido	AG 1,2 (0,7-2,2) AA 0,8 (0,4-1,7)	(El-Omar et al., 2003)
Esofágico	EEUU	53	210	56,6	52,6	No asociación Modelo desconocido	AG 1,3 (0,5-3,0) AA 1,1 (0,4-2,9)	(El-Omar et al., 2003)
Esofágico	China	246	492	38,2	30,1	AA y AG riesgo Significativo	AG 1,28 (0,90-1,80) AA 2,19 (1,31-3,64) AG+AA 1,44 (1,05-1,99)	(Yang & Fa, 2015)
Gástrico cardio	EEUU	126	210	51,6	52,6	No asociación Modelo desconocido	AG 1,0 (0,6-1,8) AA 1,1 (0,6-2,1)	(El-Omar et al., 2003)
Gástrico no cardio	EEUU	188	210	64,6	52,6	Significativo Modelo desconocido	AG 1,0 (0,6-1,8) AA 1,9 (1,1-3,5)	(El-Omar et al., 2003)
Gástrico	Finlandia	112	205	54,9	58,5	No asociación	AG 0,93 (0,55-1,57) GG 1,38 (0,73-2,60)	(Kamangar et al., 2006)
Gastroesofágico	Escocia	200	223	49,7	47,5	No asociación Modelo desconocido	GG 1,077 (0,70-1,66) AG 0,746 (0,51-1,09)	(Deans et al., 2007)
Leucemia linfocítica crónica	Italia	39	111	64,1	74,3	No asociación	AG 1,9 (0,8-4,2) GG 1,9 (0,5-8,0)	(Ennas et al., 2008)

Tabla V (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-10 rs1800896 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Linfoma de Hodgkin	Grecia	37	84	35,1	33,3	No asociación	AG 1,17 (0,34-4,04) GG 0,89 (0,26-3,02)	(Andrie et al., 2009)
Linfoma eBL	África subsahariana	117	88	67,9	66,5	No asociación Modelo desconocido	AG 1,23 (0,54-2,78) GG 0,91 (0,24-3,46)	(Oduor et al., 2014)
Linfoma no Hodgkin	InterLymph Consortium	2710	3108	54,1	55,6	No asociación	AG 1,08 (0,95-1,22) GG 1,13 (0,96-1,32)	(Rothman et al., 2006)
Linfoma no Hodgkin	EEUU	510	587	52,3	57,3	GG riesgo Significativo	AG 1,14 (0,86-1,51) GG 1,53 (1,08-2,17)	(Lan et al., 2006)
Linfoma no Hodgkin	Grecia	48	84	35,4	33,3	No asociación	AG 0,88 (0,29-2,66) GG 0,81 (0,28-2,33)	(Andrie et al., 2009)
Linfoma no Hodgkin	China (Han)	93	204	89,2	91,1	No asociación	AA ref AG+GG 1,38 (0,735-2,59)	(Gu et al., 2014)
Linfoma no Hodgkin	China (Uygur)	65	231	82,3	74,5	No asociación	AA ref AG+GG 0,603 (0,339-1,072)	(Gu et al., 2014)
Mama	India	200	200	81	85	No asociación	G/A 1,329 (0,917-1,926) AG+GG/AA 1,358 (0,886-2,08)	(Pooja et al., 2012)
Oral de céls. escamosas	Caucasoides	144	141	65,3	78,7	0 controles GG Modelo desconocido	AG 3,05 (1,84-5,05) GG 7,13 (0,33-155,37)	(Vairaktaris et al., 2008)
Ovario	Hawaii	180	218	54,7	52,3	No asociación Modelo desconocido	AG 1,58 (0,98-2,54) GG 1,06 (0,57-1,96)	(Bushley et al., 2004)
Papilar de tirides	Turquía	190	216	51	60	G riesgo Significativo	GG/AA 2,07 (1,21-3,55) G/A 1,45 (1,10-1,92)	(Çil et al., 2014)
Próstata	Caucasoides	247	223	54,4	47,5	Modelo desconocido Significativo	AA 1,78 (1,14-2,77)	(McCarron et al., 2002)

Tabla V (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-10 rs1800896 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
PLCO*	EEUU	1245	1763	52,6	54	No asociación	AG 0,97 (0,81-1,15) GG 0,98 (0,80-1,21)	(Michaud et al., 2006)
Próstata	Finlandia	509	382	58,6	55,5	No asociación	AG 0,86 (0,64-1,16) GG 0,79 (0,52-1,15)	(Faupel-Badger et al., 2008)
Próstata	Caucasoides	475	394	48,3	52	No asociación	AG 1,08 (0,78-1,49) GG 1,36 (0,93-2,00)	(Zabaleta et al., 2008)
Próstata	Afroamericanos	66	129	60,6	61,2	No asociación	AG 1,03 (0,53-1,98) GG 1,08 (0,37-3,10)	(Zabaleta et al., 2008)
Próstata	N. India	159	259	67,9	62,7	Significativo AA y AG riesgo	AG 2,8 (1,26-6,14) AA 2,3 (1,05-5,14)	(Kesarwani et al., 2009)
Próstata	EEUU	255	257			GG riesgo Significativo	AG/GG 1,69 (1,10-2,60) AA/GG 1,81 (1,11-2,96)	(Wang et al., 2009)
Próstata	China	262	270	91,6	93,9	No asociación	AG 1,50 (0,87-2,57) GG 1,68 (0,35-8,17)	(Liu et al., 2010)
Próstata	EEUU	192	660	36,2	35,1	No asociación	AG 1,30 (0,92-1,84) AA 0,92 (0,54-1,56)	(VanCleave et al., 2010)
Próstata	EEUU	867	836	51	50,1	No asociación	AG 0,98 (0,78-1,24) GG 0,92 (0,70-1,21)	(Winchester et al., 2015)
Pulmón	Turquía	44	59	59	74	Modelo desconocido Significativo	AG 3,38 (1,57-9,71) AA 0,26 (0,10-0,67)	(Colakogullari et al., 2008)

Tabla VI. Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-17A rs2275913 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical	China	311	463	47,3	40,5	AA y A riesgo Significativo	AA/GG 1,72 (1,15-2,57)	(Quan et al., 2012)
Cervical	China	352	352	37,07	28,84	A y AA riesgo Significativo	AA/GG 2,01 (1,15-3,49)	(Cong et al., 2015)
Cervical	China	216	431	36,11	28,65	AA riesgo Significativo	AA/GG 1,99 (1,12-3,50)	(Li et al., 2015)
Cervical	China	264	264	36,17	27,46	AA riesgo Significativo	AA/GG 2,34 (1,24-4,49)	(Lv et al., 2015)
Cervical	China	306	354	36,28	26,84	AA riesgo Significativo	AA/GG 2,84 (1,57-5,23)	(Sun et al., 2015)
Colon	Rusia	104	300	36,54	39,5	No asociación	GG/AA 0,92 (0,44-1,92)	(Kutikhin et al, 2014)
Colorrectal	Rusia	220	300	38,18	39,5	No asociación	GG/GA 0,74 (0,5-1,09)	(Kutikhin et al., 2014)
Colorrectal	Túnez	102	139	31,5	17,4	A y AA riesgo Significativo	A/G 2,14 (1,10-4,15)	(Omrane et al., 2014)
Colorrectal	Irán	202	203	69	67,8	AG riesgo Significativo	AG genot 3,64 (1,814-7,296)	(Nemati et al., 2015)
Esofágico	China	380	380	44,74	43,68	No asociación	GG/GA+AA 1,16 (0,84-1,59)	(Yin et al., 2014)
Gástrico	Japón	287	523	45,64	37,95	AA riesgo Significativo	A/A homo 3,53 (2,34-5,34)	(Shibata et al., 2009)
Gástrico	China (Han)	945	768	52,12	50,72	No asociación	AG/GG 1,23 (0,96-1,56)	(Wu et al., 2010)
Gástrico	Japón	333	583	45,8	37,48	AA riesgo Significativo	AA/GG 2,38 (1,63-3,46)	(Arisawa et al., 2012)

Tabla VI (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-17A rs2275913 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (CI 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Gástrico	Irán	161	171	46,3	33,3	A riesgo Significativo	A/G 1,72 (1,26-2,36)	(Rafiei et al., 2013)
Gástrico	Rusia	60	300	38,33	39,5	No asociación	GG/AA 1,32 (0,56-3,11)	(Kutikhin et al., 2014)
Gástrico	China	293	550	36,18	30,73	A riesgo Significativo	AA/GG 1,60 (1,00-2,53)	(Qinghai et al., 2014)
Gástrico	China	462	462	66,88	33,12	A y AA riesgo Significativo	AA/GG 2,10 (1,40-3,16)	(Wang et al., 2014)
Gástrico	China	260	512	41,44	36,34	A riesgo Significativo	A/G 1,39 (1,07-1,81)	(Zhang et al., 2014)
Gástrico	China	572	573	36,36	33,6	No asociación	AA/GG 1,25 (0,86-1,83)	(Gao et al., 2015)
Gástrico	China	326	326	40,03	29,75	A y AA riesgo Significativo	AA/GG 2,57 (1,51-4,43)	(Hou & Yang, 2015)
Gástrico	China	202	237	38,86	30,169	AA riesgo Significativo	AA/GG 2,32 (1,20-4,54)	(B. Xu et al., 2016)
							AG/GG 1,33 (0,87-2,03)	
Gástrico	China (Han)	386	374	31,61	29,28	No asociación		(Yang et al., 2016)
Hepatocelular	China	395	174	52,8	53,2	No asociación	G/A 1,015 (0,789-1,307)	(Li et al., 2014)
Hepatocelular	China	155	171	52,6	53,2	No asociación	A/G 1,026 (0,754-1,396)	(Xi et al., 2015)
Leucemia mieloide aguda	Polonia	62	125	62,9	69,6	No asociación		(Wróbel et al., 2014)
Mama	China (Han)	491	502	42,57	36,03	Modelo desconocido	AA 1,76 (1,24-2,51)	(Wang et al., 2012)
							A 1,32 (1,10-1,58)	
Ovario	Rusia	75	168	35,33	41,96	No asociación	GG/AA 0,56 (0,24-1,30)	(Kutikhin et al., 2014)
Pulmón	Túnez	239	258	21,7	20,35	No asociación	AA/GG 1,04 (0,46-2,35)	(Kaabachi et al., 2014)
							AG/GG 1,14 (0,78-1,67)	
Pulmón	China	320	358	46,56	40,92	AA riesgo Significativo	AA/GG 1,88 (1,18-3,00)	(Y. He et al., 2015)
							A/G 1,26 (1,01-1,56)	

Tabla VI (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre IL-17A rs2275913 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo A		Efecto	OR (CI 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Rectal	Rusia	115	300	39,13	39,5	No asociación	GG/AA 1,14 (0,57-2,28)	(Kutikhin et al., 2014)
Tiroides	Corea del sur	94	260	48	45	GG protección Significativo	GG/AA 0,19 (0,04-0,90)	(Lee et al., 2015)
Vejiga	China (Han)	301	446	48,2	40,4	A riesgo Significativo	A/G 1,37 (1,12-1,69)	(Zhou et al., 2013)

Tabla VII. Resumen de estudios de asociación caso-control entre TNF- α rs1799964 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo C		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Cervical	China (Han)	452	494			Modelo desconocido T riesgo Significativo	C 0,32 (0,23-0,43) T 3,16 (2,33-4,28)	(Li et al., 2018)
Colon	Croacia	200	200	20,0	19,0	No asociación	CT/TT 1,061 (0,68-1,654) CC/TT 1,116 (0,476-2,617)	(Kapitanović et al., 2014)
Colorrectal	EEUU	114	114	17,1	18,4	No asociación		(Garrity-Park et al., 2008)
Gástrico	Corea	341	261	18,5	20,7	No asociación	TT/CT 1,37 (0,96-1,95) TT/CC 0,71 (0,29-1,71)	(Lee et al., 2004)
Gástrico	Japón	105	172	25,7	14,5	C riesgo Significativo	CT+CC/TT 2,074 (1,244-3,157)	(Sugimoto et al., 2007)
Gástrico	Corea	83	324	18,7	19,9	No asociación	TC/TT 0,8 (0,5-1,4) CC/TT 1,1 (0,3-4,3)	(Yang et al., 2009)
Gástrico	Irán	99	99	20,7	14,1	No asociación	CT/TT 0,258 (0,73-3,24) CC/TT 1,78 (0,439-7,31)	(Ghavami et al., 2017)

Tabla VII (continuación). Resumen de estudios de asociación caso-control entre TNF- α rs1799964 y cáncer.								
Cáncer	Población	N casos	N controles	% Alelo C		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Gástrico	India	120	135	35,0	19,0	C riesgo Significativo Varios modelos	CT/TT 6,26 (2,83-13,86) CC/TT 5,27 (1,29-21,48) TC+CC/TT 6,10 (2,83-13,14)	(Sultana et al., 2018)
Hepatocelular	Japón	209	275	16,0	16,2	No asociación Modelo desconocido	CT 0,35 (0,16-0,78) CC 2,35 (0,40-13,75)	(Sakamoto et al., 2008)
Hepatocelular	China (Han)	126	126	19,4	16,7	No asociación	C/T 1,12 (0,655-1,911)	(Chen et al., 2011)
Hepatocelular	Corea	224	206			No asociación	CC/CT+TT 0,98 (0,46-2,09)	(Jin et al., 2015)
Hepatocelular	Corea del Sur	157	201	21,97	22,4	No asociación	CT/TT 0,796 (0,487-1,301) CC/TT 1,308 (0,498-3,436)	(Shin et al., 2015)
Hepatocelular + HPV	Corea del Sur	125	201	24,8	22,4	No asociación	CT/TT 0,922 (0,55-1,544) 1,724 (0,628-4,729)	(Shin et al., 2015)
Mama	Seúl	95	190	23,2	23,4	No asociación		(Park et al., 2002)
Mama	EEUU + Polonia	3080	2648	22,4	21,2	CC riesgo Significativo CT = TT	CT/TT 1,01 (0,91-1,13) CC/TT 1,29 (1,01-1,65)	(Gaudet et al., 2007)
Mama	EEUU	58	916	24,1	20,7	No asociación	CT/TT 1,21 (0,68-2,14) CC/TT 1,43 (0,49-4,22)	(Gallicchio et al., 2007)
Mama	India	40	150			No asociación	TC+CC/TT 1,85 (0,92-3,75)	(Kohaar et al., 2009)
Nasofaríngeo	Taiwan	23	50	15,2	16,0	No hay CC No asociación	CT/TT 0,9 (0,3-2,7)	(Ho et al., 2006)
Oral	S Tailandia	92	137	28,3	29,2	No asociación	CT/TT 0,95 (0,53-1,72) CC/TT 1,11 (0,40-3,11)	(Kietthubthew et al., 2010)

Tabla VII. Resumen de estudios de asociación caso-control entre TNF- α rs1799964 y cáncer.								
Cáncer	Población	N caso	N control	% Alelo C		Efecto	OR (IC 95%)	Referencia
				Casos	Controles			
Oral + HPV	EEUU	225	293			C Riesgo TT sin HPV ref. (*) Significativo	TC+CC/TT 1,4 (1,0-2,0)	(Jin et al., 2013)
Oral + HPV	EEUU	100	42			C riesgo TT sin HPV ref. (*) Significativo	TT/TT* 3,1 (1,6-6,1) CT+C/TT* 4,5 (2,6-7,9)	(Jin et al., 2013)
Ovario	S. India	283	306	32,2	24,4	TT protección Significativo	TT/CT+CC 0,54 (0,38-0,75) TC/TT+CC 1,81 (1,30-2,51)	(Deepika et al., 2013)
Pancreático (PDAC)	Grecia y Turquía	78	98	22,7	11,7	No asociación	TT/CT 1,90 (0,94-3,85) TT/CC 4,71 (0,91-24,31)	(Karakaxas et al., 2014)
Pancreático neuroendocrino (pNET)	Grecia y Turquía	42	98	36,9	11,7	T riesgo C protección Significativo	TT/CT 3,19 (1,38-7,43) TT/CC 16,21 (3,18-82,67)	(Karakaxas et al., 2014)
Papilar (IPNM)	Grecia y Turquía	17	98	38,2	11,7	T riesgo C protección Significativo	TT/CT 4,05 (1,27-12,95) TT/CC 10,5 (2,35-115,95)	(Karakaxas et al., 2014)
Próstata	blanco no hispano	1142	1375	21,1	20,3	No asociación	CT/TT 1,00 (0,84-1,18) CC/TT 1,26 (0,87-1,83)	(Danforth et al., 2008)
Próstata	N. India	197	256	61,9	50,2	C Riesgo Significativo	CC/TT 2,01 (1,16-3,42) C/T 1,61 (1,24-2,61)	(Kesarwani et al., 2009)



ANEXO 2.

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PARTICIPANTE.

Se solicita su participación en el proyecto de investigación, que se está llevando a cabo en la Universidad de Santiago de Compostela, con la colaboración de varias áreas sanitarias de Galicia, denominado: “Perfiles genético-moleculares en pacientes con adenocarcinoma de próstata”.

Dicho proyecto consiste en un estudio genético, mediante el cual se pretenden identificar factores de riesgo que se asocian al cáncer de próstata, analizando la posible relación existente entre determinados marcadores de ADN, distintos factores ambientales y el cáncer de próstata.

Su participación y contribución al proyecto consistirá en la donación de una pequeña muestra de sangre venosa (4-10 ml), que será extraída por un profesional especializado y en el día que suponga la mínima molestia para usted, y en la contestación a un reducido número de preguntas relativas fundamentalmente a sus hábitos de vida.

En la extracción de sangre en vena, se tomarán todas las medidas higiénico-sanitarias establecidas, empleándose material estéril y desechable. El riesgo que conlleva este proceso podría considerarse mínimo, como la sensación de mareo y la aparición de hematoma en la zona de la extracción.

Una vez otorgado su consentimiento y obtenida la muestra habrá concluido su participación en el proyecto, entendiéndose que toda la información que se obtenga de su ADN, así como la información clínica utilizada en las investigaciones será tratada de forma estrictamente confidencial (conforme establece la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal).

Nombre y apellidos _____

Vecino de _____ **Teléfono** _____

Por el presente escrito doy mi consentimiento a que se me extraiga y analice una muestra de sangre, con fines exclusivamente investigadores.

Tras haber sido informado acerca de la naturaleza del estudio, tal como se desarrolla en el documento anexo, y habérseme aclarado los aspectos o dudas que yo pudiera haber planteado, he comprendido que dichos estudios se efectúan exclusivamente con fines investigadores, manteniendo el anonimato del donante, sin ánimo de lucro por parte de equipo investigador, y sin expectativas de compensación económica, ni de otro tipo, para el donante.

Asimismo, se me ha informado acerca de la posibilidad de poder acceder a los resultados de tales investigaciones, así como a la facultad de retirar en cualquier momento mi consentimiento para analizar mi muestra de sangre.

Establecidas así las condiciones de mi participación, expreso favorablemente mi consentimiento para dichos estudios. Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente en _____ con fecha _____

Firma del participante.

Firma del investigador.

Deseo retirar mi consentimiento para analizar mi muestra de sangre

Fecha _____ Firma del participante _____

Fírmese sólo en caso de revocación.

PERFIL GENÉTICO EN CÁNCER DE PRÓSTATA **HOJA DE RECOGIDA DE DATOS**

Datos personales			
Nombre y apellidos			
Fecha nacimiento		Nº Historia Clínica	
Lugar de nacimiento		Peso y altura	
Apellidos padre		Apellidos madre	
Origen abuelos paternos		Origen abuelos maternos	
Datos clínicos			
Tacto rectal		PSA (PSA l/t)	
Cáncer próstata (CaP)		Fecha diagnóstico	
Datos profesionales			
Profesión			
Años de trabajo			
Desarrollo sentado o de pie			
Antecedentes familiares de cáncer de próstata			
No/Sí			
Número de familiares en primer grado con CaP			
Hábito tabáquico			
Edad inicio			
Nº años fumando			
Nº cigarrillos/día			
Rubio/negro			
Apura cigarrillo			
Consumo de café			
Cantidad café/día			
Exposición solar			
Tiene una exposición solar elevada de forma voluntaria o por motivos profesionales (Agricultor, ganadero, mariner, etc.)			
Sí/No			
Horas de exposición diaria			
Motivo de exposición			

Exposición a xenobióticos	
Tiene una exposición elevada por motivos profesionales o personales (industrias químicas, metalúrgicas, asbesto, asfalto, carbón, carpintero, motorista, etc.)	
Sí/No	
Tiempo de exposición: horas, años	
Tipo de exposición (industria, etc.)	
Consumo de AINEs	
Enfermedades que requieran el uso prolongado y continuado o intermitente de AINEs: reumáticas, autoinmunes, cefalea, etc., o bien profilaxis tromboembólica.	
Tipo de AINE	
Enfermedad	
Dosis	
Tiempo total de tratamiento	
Patología urológica asociada	
Episodios de prostatitis, infección urinaria, orquiepididimitis; disuria o escozor eyaculatorio frecuentes, o cualquier síntoma que sugiera cuadro de prostatitis crónica.	
Sí/No	
Tipo de patología	
Duración (si procede)	
ETS (Sí/No, cuál)	

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Sistema genital y urinario masculino.....	1
Figura 2. Zonas de McNeal.....	3
Figura 3. Efecto de la prostatitis.....	6
Figura 4. Evolución de las patologías prostáticas.....	7
Figura 5. Fases de la respuesta inflamatoria.....	9
Figura 6. Relación entre inflamación y cáncer.....	10
Figura 7. Rutas principales de la reparación de ADN.....	13
Figura 8. Hipótesis de Knudson.....	15
Figura 9. Cambios celulares en la progresión del PCa.....	16
Figura 10. Incidencia de PCa a nivel mundial.....	22
Figura 11. Prevalencia de casos de PCa a 5 años en varones en 2012 a nivel mundial.....	23
Figura 12. Tasa de mortalidad cruda por cáncer de próstata entre los años 2013 y 2015.....	24
Figura 13. Red de interacciones de las citoquinas.....	32
Figura 14. Ruta de señalización de IL-1 en el microambiente tumoral.....	37
Figura 15. Interacciones de mediadores inflamatorios en células tumorales.....	37
Figura 16. Ciclo inflamatorio mediado por IL-1 α	40
Figura 17. Localización del rs3783553 del gen <i>IL-1A</i>	41
Figura 18. Representación gráfica de la frecuencia del alelo deleción del rs3783553 en distintas poblaciones humanas.....	41
Figura 19. Síntesis y secreción de la IL-1 β inducida por la propia IL-1 β como ejemplo de la principal ruta de síntesis.....	43
Figura 20. Localización del rs16944 del gen <i>IL-1B</i>	45
Figura 21. Representación gráfica de la frecuencia del alelo A del rs16944 en distintas poblaciones humanas.....	45
Figura 22. Funciones de la IL-18.....	48

Figura 23. Localización del rs187238 del gen <i>IL-18</i>	49
Figura 24. Representación gráfica de la frecuencia del alelo C del rs187238 en distintas poblaciones humanas.....	49
Figura 25. Esquema de las actividades de la IL-6 en el organismo.....	52
Figura 26. Ruta esquemática de la IL-6.....	54
Figura 27. Localización del rs1800795 del gen <i>IL-6</i>	55
Figura 28. Representación gráfica de la frecuencia del alelo G del rs1800795 en distintas poblaciones humanas.....	56
Figura 29. Diagrama de la ruta de señalización de IL-10.....	60
Figura 30. Localización del rs1800896 en el cromosoma 1.....	61
Figura 31. Representación gráfica de la frecuencia del alelo A del rs1800896 en distintas poblaciones humanas.....	61
Figura 32. Principales rutas de señalización de IL-17.....	65
Figura 33. Resumen de la regulación genética de IL-17A a partir de estudios realizados en seres humanos y ratones.....	65
Figura 34. Diferenciación de las células Th17.....	66
Figura 35. Localización del rs2275913 del gen <i>IL-17A</i> en el cromosoma 6.....	68
Figura 36. Representación gráfica de la frecuencia del alelo A del rs2275913 en distintas poblaciones humanas.....	68
Figura 37. Mecanismos intracelulares del MIF.....	72
Figura 38. Localización en el cromosoma 22 del rs2070767 del gen <i>MIF</i>	73
Figura 39. Representación gráfica de <i>MIF</i> (verde) y <i>MIF-AS1</i> (azul) en el cromosoma.....	73
Figura 40. Representación gráfica de la frecuencia del alelo C del rs2070767 en distintas poblaciones humanas.....	75
Figura 41. Esquema de señalización y bioactividad de TNF.....	78
Figura 42. Ruta de señalización de TNF- α y su interacción con IL-1.....	79
Figura 43. Localización del rs1799964 del gen <i>TNFA</i>	80
Figura 44. Representación gráfica de la frecuencia del alelo C del rs1799964 en distintas poblaciones humanas.....	81

Figura 45. Pasos de la ruta BER.....	83
Figura 46. Localización del rs25487 del gen <i>XRCC1</i>	84
Figura 47. Representación gráfica de la frecuencia del alelo G del rs25487 en distintas poblaciones humanas.....	85
Figura 48. Resumen de las principales rutas en las que participa el complejo formado por XPF y ERCC1.....	87
Figura 49. Localización del rs744154 del gen <i>ERCC4</i>	88
Figura 50. Representación gráfica de la frecuencia del alelo G del rs744154 en distintas poblaciones humanas.....	88
Figura 51. Distribución geográfica del origen de las muestras.....	94
Figura 52. Plantilla para placa de 96 pocillos.....	101
Figura 53. Esquema de MALDI-TOF.....	105
Figura 54. Visualización de los resultados obtenidos en el espectrofotómetro de masas mediante el <i>software Typer Analyzer</i> v.4.0.22.....	106
Figura 55. Salida del programa informático para el análisis manual.....	107
Figura 56. Detalles de la salida para el análisis manual.....	108
Figura 57. Ejemplo de evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata con el aumento de la variable.....	119
Figura 58. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (IL-1 α – rs3783553).....	137
Figura 59. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (IL-1 α – rs3783553).....	138
Figura 60. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (IL-1 β – rs16944).....	140
Figura 61. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (IL-1 β – rs16944).....	141
Figura 62. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (IL-1 β – rs16944).....	141
Figura 63. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (IL-18 – rs187238).....	143
Figura 64. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (IL-6 – rs1800795).....	148

Figura 65. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (IL-10 – rs1800896).....	150
Figura 66. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (IL-10 – rs1800896).....	151
Figura 67. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (IL-10 – rs1800896).....	151
Figura 68. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (IL-17A – rs2275913).....	154
Figura 69. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (IL-17A – rs275913).....	154
Figura 70. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (IL-17A – rs275913).....	155
Figura 71. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (MIF – rs2070767).....	157
Figura 72. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (MIF – rs2070767).....	158
Figura 73. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (MIF- rs2070767).....	159
Figura 74. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (TNF- α – rs1799964).....	161
Figura 75. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (TNF- α – rs1799964).....	162
Figura 76. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (TNF- α – rs1799964).....	162
Figura 77. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta la edad (XRCC1 – rs25487).....	164
Figura 78. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el tabaquismo (<i>pack-years</i>) (XRCC1 – rs25487).....	165
Figura 79. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (XRCC1 – rs25487).....	166
Figura 80. Evolución del riesgo a desarrollar cáncer de próstata a medida que aumenta el IMC (ERCC4 – rs744154).....	168

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Distribución y periodo de recogida de muestras.....	94
Tabla 2. Cantidades y componentes de la mezcla de PCR (Oeth et al., 2005).....	102
Tabla 3. Mezcla de SAP.....	103
Tabla 4. Mezcla iPLEX.....	103
Tabla 5a. Descripción de OR mediante una tabla de contingencia.....	113
Tabla 5b. Interpretación de los resultados del cálculo de OR.....	113
Tabla 6a. Tabla de contingencia de observados.....	114
Tabla 6b. Tabla de contingencia de esperados.....	114
Tabla 7. Clasificación del estado nutricional en función del IMC (OMS).....	118
Tabla 8. Distribución de combinaciones genotípicas a partir de los genotipos de dos marcadores dialélicos.....	120
Tabla 9. Características de la muestra de casos y controles.....	123
Tabla 10. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs3783553.....	124
Tabla 11. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	125
Tabla 12. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs3783553.....	125
Tabla 13. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs16944.....	126
Tabla 14. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	126
Tabla 15. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs16944.....	127
Tabla 16. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs187238.....	127
Tabla 17. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	127
Tabla 18. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs187238.....	128

Tabla 19. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs1800795.....	128
Tabla 20. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	129
Tabla 21. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs1800795.....	129
Tabla 22. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs1800896.....	130
Tabla 23. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	130
Tabla 24. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs1800896.....	131
Tabla 25. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs2275913.....	131
Tabla 26. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	132
Tabla 27. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs2275913.....	132
Tabla 28. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs2070767.....	133
Tabla 29. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	133
Tabla 30. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs2070767.....	134
Tabla 31. Análisis descriptivo del PSA de los casos en función del genotipo del rs1799964.....	134
Tabla 32. Análisis descriptivo del PSA (≥ 10 y < 10) para cada genotipo.....	134
Tabla 33. Análisis descriptivo del PSA de los controles en función del genotipo del rs1799964.....	135
Tabla 34. Distribución genotípica y alélica de la muestra (IL-1 α – rs3783553).....	136
Tabla 35. Modelos genéticos OR (IL-1 α – rs3783553).....	136
Tabla 36. Estratificación por variables (IL-1 α – rs3783553).....	137
Tabla 37. Distribución genotípica y alélica de la muestra (IL-1 β – rs16944).....	138
Tabla 38. Modelos genéticos OR (IL-1 β – rs16944).....	139
Tabla 39. Estratificación por variables (IL-1 β – rs16944).....	139

Tabla 40. Distribución genotípica y alélica de la muestra (IL-18 – rs187238).....	142
Tabla 41. Modelos genéticos OR (IL-18 – rs187238).....	142
Tabla 42. Estratificación por variables (IL-18 – rs187238).....	143
Tabla 43. Análisis de asociación en diferentes grupos de consumo tabáquico (IL-18 – rs187238).....	144
Tabla 44. Distribución genotípica y alélica de la muestra (IL-6 – rs1800795).....	145
Tabla 45. Modelos genéticos OR (IL-6 – rs1800795).....	145
Tabla 46. Estratificación por variables (IL-6 – rs1800795).....	146
Tabla 47. Estratificación por variables según el modelo sobredominante CG/CC+GG (IL-6 – rs1800795).....	147
Tabla 48. Distribución genotípica y alélica de la muestra (IL-10 – rs1800896).....	148
Tabla 49. Modelos genéticos OR (IL-10 – rs1800896).....	149
Tabla 50. Estratificación por variables (IL-10 – rs1800896).....	149
Tabla 51. Distribución genotípica y alélica de la muestra (IL-17A – rs2275913).....	152
Tabla 52. Modelos genéticos OR (IL-17A – rs2275913).....	152
Tabla 53. Estratificación por variables (IL-17A – rs2275913).....	153
Tabla 54. Estratificación por variables según el modelo sobredominante GG+AA/AG (IL-17A – rs2275913).....	153
Tabla 55. Distribución genotípica y alélica de la muestra (MIF – rs2070767).....	156
Tabla 56. Modelos genéticos OR (MIF – rs2070767).....	156
Tabla 57. Estratificación por variables (MIF – rs2070767).....	157
Tabla 58. Distribución genotípica y alélica de la muestra (TNF- α – rs1799964).....	159
Tabla 59. Modelos genéticos OR (TNF- α – rs1799964).....	160
Tabla 60. Estratificación por variables (TNF- α – rs1799964).....	160
Tabla 61. Estratificación por variables según el modelo sobredominante CC+TT/CT (TNF- α – rs1799964).....	161
Tabla 62. Distribución genotípica y alélica de la muestra (XRCC1 – rs25487).....	163
Tabla 63. Modelos genéticos OR (XRCC1 – rs25487).....	163

Tabla 64. Estratificación por variables (XRCC1 – rs25487).....	164
Tabla 65. Distribución genotípica y alélica de la muestra (ERCC4 – rs744154).....	166
Tabla 66. Modelos genéticos OR (ERCC4 – rs744154).....	167
Tabla 67. Estratificación por variables (ERCC4 – rs744154).....	167
Tabla 68. Combinaciones genotípicas estadísticamente significativas.....	169
Tabla I. Resumen estudios caso-control entre IL-1 α rs3783553 Ins/Del y cáncer.....	xvii
Tabla II. Resumen estudios caso-control entre IL-1 β rs16944 A/G y cáncer.....	xviii
Tabla III. Resumen estudios caso-control entre IL-18 rs187238 G/C y cáncer.....	xxi
Tabla IV. Resumen estudios caso-control entre IL-6 rs1800795 G/C y cáncer.....	xxii
Tabla V. Resumen estudios caso-control entre IL-10 rs1800896 A/G y cáncer.....	xxix
Tabla VI. Resumen estudios caso-control entre IL-17A rs2275913 G/A y cáncer.....	xxxiii
Tabla VII. Resumen estudios caso-control entre TNF- α rs1799964 C/T y cáncer.....	xxxv



